# BEEINFLUSSUNG DES INTESTINALEN CALCIUM- UND PHOSPHAT-TRANSPORTES DURCH GOLDHAFER, SOLANUM MALACOXYLON UND EINZELLERPROTEIN BEIM HÜHNERKÜKEN

Karin Geißdörfer

1981

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547022_0016

Aus dem Institut für Physiologie, Physiologische Chemie
und Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

# BEEINFLUSSUNG DES INTESTINALEN CALCIUM- UND PHOSPHAT-TRANSPORTES DURCH GOLDHAFER, SOLANUM MALACOXYLON UND EINZELLERPROTEIN BEIM HÜHNERKÜKEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Karin Geißdörfer
aus
Fürth/Bayern

München 1981

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. von Sandersleben

Referent: Prof. Dr. H. Zucker

Korreferent: Prof. Dr. K. Tempel

Tag der Promotion: 24. Juli 1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

MEINEN ELTERN

INHALTSÜBERSICHT


| | | Seite |
|---|---|---|
| 1. | EINLEITUNG | 1 |
| 1.1 | Das Vitamin D Hormonsystem | 1 |
| 1.2 | Calcinogene Pflanzen | 2 |
| 1.3 | Regulation der Calcium- und Phosphathomöostase | 6 |
| 1.4 | Intestinaler Phosphat- und Calciumtransport | 9 |
| 1.5 | Bestimmungsmethoden der Calcium- und Phosphat-aufnahme in vivo und in vitro | 14 |
| 2. | PROBLEMSTELLUNG | 16 |
| 3. | EIGENE UNTERSUCHUNGEN | 18 |
| 3.1 | Versuchsaufbau | 18 |
| 3.2 | Versuchstiere und Haltungsbedingungen | 21 |
| 3.3 | Fütterung | 22 |
| 3.4 | Herkunft und Einsatz der Diätvariablen | 32 |
| 3.5 | Versuchsanordnung der Darmtransportstudien | 35 |
| 3.5.1 | Berechnung des Calcium- und Phosphattransportes | 37 |
| 3.5.2 | Berechnung der Calcium- und Phosphataufnahme | 38 |
| 3.6 | Statistik | 39 |
| 4. | VERSUCHSBESCHREIBUNGEN UND ERGEBNISSE | 40 |
| 4.1 | Versuch I | 40 |
| 4.2 | Versuch II | 43 |
| 4.3 | Versuch III | 46 |
| 4.4 | Versuch IV | 49 |
| 4.5 | Versuch V | 51 |
| 4.6 | Versuch VI | 53 |
| 5. | DISKUSSION | 58 |
| 5.1 | Ergebnisse der mit Goldhafer und Solanum malacox. durchgeführten Versuche | 58 |
| 5.2 | Ergebnisse des mit bakteriellem Einzellerprotein durchgeführten Versuches | 61 |
| 6. | ZUSAMMENFASSUNG | 63 |
| 7. | SUMMARY | 65 |
| 8. | ANHANG: Tabellen der Irrtumswahrscheinlichkeiten (p) | 67 |
| 9. | LITERATURVERZEICHNIS | 73 |

# 1. EINLEITUNG

## 1.1. Das Vitamin D Hormon-System

Vitamin D wird mit der Nahrung aufgenommen oder in der Haut, von der UV-Strahlung abhängig - aus 7-Dehydrocholesterol synthetisiert. In den Lebermikrosomen wird das Cholecalciferol in der 25-Position zu 25-Hydroxycholecalciferol ($25(OH)D_3$) hydroxyliert. In den Nierenmitochondrien entstehen durch das Enzym 25-Hydroxy-1$\alpha$-hydroxylase zwei weitere Metaboliten: das 1,25-Dihydroxycholecalciferol ($1,25(OH)_2D_3$) und das 24,25-Dihydroxycholecalciferol ($24,25(OH)_2D_3$). 1,25-Dihydroxyvitamin $D_3$, der wesentlich aktivere Metabolit, wird als Steroidhormon angesprochen, dessen Synthese in Form eines "Feedback-Mechanismus" durch den Calcium- und Phosphatstoffwechsel kontrolliert wird. Calcium- und/oder Phosphatbedarf stimulieren die Bildung von $1,25(OH)_2D_3$, gleichzeitig wird weniger $24,25(OH)_2D_3$ synthetisiert. Umgekehrt wird bei ausgeglichenem Calcium- und Phosphatstoffwechsel relativ mehr $24,25(OH)_2D_3$ gebildet (DE LUCA 1979).

Die Wirkungen des Vitamin D erklären sich aus seiner Rolle in der Regulation des Calcium- und Phosphathaushalts, indem es die drei Quellen für Calcium und Phosphat beeinflußt: die Knochen, die Nieren und vor allem den Darm. Im Knochen wird unter dem Einfluß von 1,25-Dihydroxyvitamin $D_3$ Calcium und Phosphat mobilisiert. Die Wirkung von $1,25(OH)_2D_3$ auf die Rückresorption von Calcium und Phosphat in der Niere ist noch nicht erwiesen. Dagegen ist die Steigerung des intestinalen Transports von Calcium durch Vitamin D bereits seit 1937 bekannt (NICOLAYSEN). HARRISON und HARRISON konnten dann 1961 die stimulierende Wirkung des Vitamin D auf den intestinalen Phosphattransport nachweisen.

Die 25-Hydroxy-1α-hydroxylase in der Niere und damit die Produktion des $1,25(OH)_2D_3$ werden besonders durch das Parathormon, den Calciumgehalt der Diät und die Menge von Phosphat in der Diät kontrolliert. Daneben üben Calcitonin, $1,25(OH)_2D_3$ selbst, Prolactin, Östrogene und Testosteron einen geringeren Einfluß aus (DE LUCA 1979).

OMDAHL und DE LUCA berichteten 1972, daß ein hoher Strontiumgehalt der Diät in der Niere die Hydroxylierung zu $1,25(OH)_2D_3$ hemmt und in kurzer Zeit bei den betroffenen Tieren das Bild einer Rachitis hervorruft. Obgleich der Mechanismus dieser Blockade nicht bekannt ist, ermöglicht dieses Hemmodell, Substanzen auf ihren Gehalt an $1,25(OH)_2D_3$ zu prüfen, denn exogen zugeführtes $1,25\ (OH)_2D_3$ ist in vollem Maße wirksam.

Ebenso kann durch Verabreichung von EHDP (Äthan-1-hydroxy-1,1-diphosphonat, eine Organophosphonsäure) die Hydroxylierung in der Niere und folglich die Synthese von $1,25(OH)_2D_3$ gehemmt werden (BAXTER et al. 1974).

## 1.2. Calcinogene Pflanzen

Wird die Regulation der Vitamin D-Metabolisierung in der Niere umgangen, so muß das zu Störungen des Calcium- und Phosphatstoffwechsels führen. Ein solches Krankheitsbild einer Hypervitaminose D - Hypercalcämie, Hyperphosphatämie, exzessive Weichteilverkalkungen, besonders auch des Endokards und der großen Arterien, Abmagerung und unter Umständen Tod - ist bei Weidetieren unter anderem in Südamerika, Florida und in Deutschland und Österreich bekannt.

Als Ursache der in Argentinien "Enteque seco" und in Brasilien "Espichamento" genannten Krankheit wurde Solanum malacoxylon beschrieben (WORKER und CARILLO 1967, DÖBEREINER et al. 1975). WASSERMAN und TAYLOR zeigten 1974, daß Solanum malacoxylon ähnlich wie 1,25-Dihydroxyvitamin $D_3$ die Strontiumblockade in der Niere überwinden kann. Damit wurde zum ersten Male bei einer Pflanze eine Substanz mit $1,25(OH)_2D_3$-ähnlicher Wirkung nachgewiesen.

Die Calcinose von Pferden und Rindern in Florida wird durch Cestrum diurnum ausgelöst (KROOK et al. 1975 a, b), ebenfalls eine Solanaceenart. Der Nachweis von WASSERMAN (1978), daß sowohl Solanum malacoxylon als auch Cestrum diurnum das $1,25(OH)_2D_3$ als Glykosid enthalten, erklärte die unterschiedlichen Ergebnisse biologischer und chemisch-analytischer Untersuchungen (WALLING und KIMBERG 1975 a, b, HUMPHREYS 1973, PETERLIK und WASSERMAN 1975, WASSERMAN et al. 1976).

Der $1,25(OH)_2D_3$-Gehalt dieser Pflanzen erklärt auch die Calcinoseentstehung: Durch das bereits vorhandene 1,25-Dihydroxyvitamin $D_3$ können sie die Syntheseregulation durch die 1$\alpha$-Hydroxylase und damit den wichtigsten Kontrollpunkt der Calciumhomöostase umgehen. Als Folge werden exzessive Calciummengen sowohl absorbiert wie aus dem Skelett mobilisiert und im Gewebe abgelagert (=Calcinose). Zu der Ablagerung des Calciums könnte durch eine direkte Gewebewirkung der hohe $1,25(OH)_2D_3$-Gehalt beitragen. WASSERMAN et al. (1976) vermuteten, daß dieser Effekt bei Cestrum diurnum noch durch den hohen Calciumgehalt (2,4 %) der Pflanze verstärkt werden könnte (Phosphor 0,44 %).

Die systematische Suche nach der Ursache der "Enzootischen Kalzinose" in Deutschland bzw. der "Weidekrankheit"

in Österreich führte DIRKSEN und Mitarbeiter (1972, 1974) bzw. LIBISELLER et al. (1974) zu der Grasart Goldhafer (Trisetum flavescens). Die ähnliche Symptomatik all dieser durch Weidepflanzen verursachten Krankheiten ließ auch im Goldhafer das 1,25-Dihydroxyvitamin $D_3$ vermuten.

Durch Verfütterung von Goldhafer an rachitische Küken konnten WASSERMAN et al. 1977 die Vitamin D-abhängige Synthese des CaBP (Calcium-bindendes Protein) im Darm induzieren, doch konnte der Goldhafer bei Strontiumzusatz der Diät die rachitischen Knochen der Tiere nicht heilen. Die Autoren folgerten daraus, daß der größte Teil der Aktivität nicht als 1,25-Dihydroxyvitamin $D_3$ vorliegt, die Substanz labil ist oder beim Küken einer anderen "Verwertung" unterliegt als beim Wiederkäuer.

Im gleichen Jahr isolierten ZUCKER et al. (1977) aus einem Ätherextrakt vom Goldhafer mit Hilfe der Hochdruckflüssigkeitschromatographie eine biologisch hochaktive Fraktion mit Steroidcharakter. Sie stellten fest, daß der Trisetum-Faktor mit Vitamin $D_3$ gleiche oder fast gleiche Retentionszeiten zeigt. Dieses Ergebnis bestätigten RAMBECK und ZUCKER (1978) mit gaschromatographischen und massenspektrometrischen Untersuchungen. Sie fanden das Wirkungsprinzip von Goldhafer nicht mit dem von Solanum malacoxylon und $1,25(OH)_2D_3$ übereinstimmend, sondern das Vorhandensein von Vitamin $D_3$ selbst (RAMBECK et al. 1979 a) und eines Vitamin $D_3$-Esters (RAMBECK et al. 1979 c). Hemmversuche mit Strontium und EHDP an rachitischen Küken bestätigten diese Befunde (ZUCKER et al. 1979).

Im Gegensatz dazu konnten PETERLIK und Mitarbeiter (1977) durch Zusatz von gemahlenem Goldhafer bei rachitischen Küken auch dann die CaBP-Synthese induzieren und den Calcium-

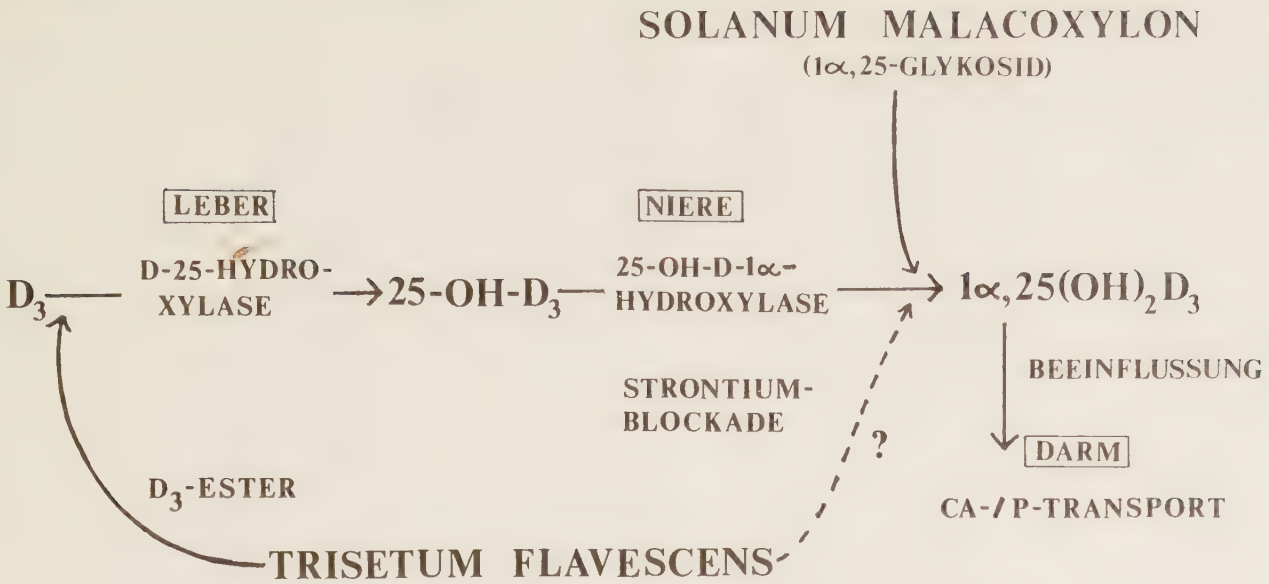


**Abbildung 1**

**Schematische Darstellung der Strontiumblockade und ihrer Überwindung durch Solanum malacoxylon und möglicherweise durch Trisetum flavescens**

und Phosphattransport erhöhen, wenn die Diät 2,5 % Strontium enthielt. Allerdings lagen diese Transportraten doch deutlich unter den Normalwerten. Sie sahen darin den Beweis für einen, wenn auch nur geringen, Gehalt an $1,25(OH)_2D_3$-ähnlicher Aktivität (vgl. Abb. 1).

WILCZEK et al. (1978) fanden bei Ratten, die nur 2,5 % Goldhafer in der Diät erhalten hatten, einen leichten Abfall des Blut-P-Spiegels und Anstieg des Calcium- und Phosphatgehaltes der Knochen. Obwohl die gleiche Arbeitsgruppe (STON et al. 1978) trotz EHDP-Hemmung der 1-Hydroxylase ähnliche Ergebnisse erhielt, sahen sie als Ursache für die calcinogene Aktivität des Goldhafers nicht das 1,25-Dihydroxyvitamin $D_3$ an. Sie hielten vielmehr eine Interaktion des Trisetum-Faktors mit dem Calcium- und Phosphatstoffwechsel auf anderen Wegen (Calcitonin, Parathormon) für möglich.

KÖHLER et al. (1978) hatten in einem Wachteleischalenbestimmungstest pro Kilogramm Goldhafer-Trockenmasse ca. 22.000 I.E.* Vitamin $D_3$-Wirkungsäquivalente gefunden. Dagegen stellten RAMBECK et al. (1979 b) mit Wachteln eine Vitamin $D_3$-Aktivität von 3.600 I.E. pro Kg und mit Ratten von 3.000 - 4.000 I.E. pro Kg Goldhafer-Trockensubstanz fest. Diese biologische Aktivität stimmte gut mit der auf analytischem Wege gefundenen Menge von 100 µg $D_3$ pro Kilogramm Goldhafer-Trockenmasse überein.

WASSERMAN et al. (1976) gaben für 1 Kilogramm Solanum malacoxylon-Trockenmasse eine Vitamin D-Wirkung von ca. 300.000 I.E. an. Im Cestrum diurnum wurden ca. 30.000 - 35.000 I.E. pro Kg Trockensubstanz ermittelt. Bei beiden

---

* 1 I.E. Vitamin $D_3$ = 0,025 µg Vitamin $D_3$

Solanaceen liegt überdies als Wirkprinzip $1,25(OH)_2D_3$ vor, das in seiner Aktivitätsentfaltung nicht der Feedback-Regulation in der Niere unterworfen ist. Im Goldhafer ist dagegen nur ein Zehntel bzw. ein Hundertstel dieser Aktivität nachgewiesen, die noch dazu zum großen Teil als Cholecalciferol vorliegen soll.

Dennoch entstanden bei Schafen, die 5 Monate lang täglich 800 g Goldhafer-Trockensubstanz erhielten, schwere Verkalkungen. Die Kontrolltiere zeigten trotz täglicher Applikation von 10.000 bzw. 20.000 I.E. Vitamin $D_3$ keine Veränderungen (DIRKSEN et al. 1979).

## 1.3. Regulation der Calcium- und Phosphathomöostase

Ein konstanter Blutspiegel des Calcium ist von vitaler Bedeutung (z. B. für die Steuerung der Membranpermeabilität, die Regelung der neuromuskulären Erregbarkeit, die Physiologie der Muskelkontraktion, die Aktivierung von Enzymsystemen, die Blutgerinnung, die Knochen- und Zahnentwicklung), deshalb wird er durch einen aufwendigen, doppelten Steuerungsmechanismus aufrecht erhalten.

Geringe Plasma-Schwankungen können durch den "avitalen" Ionenaustausch zwischen Apatitoberfläche und Plasma ausgeglichen werden.

Größere Plasma-Schwankungen werden durch 3 Hormone, deren Wirkungen auf die Erfolgsorgane (Darm: Absorption, Blut: Transport, Knochen: Depot, Niere: Ausscheidung) sich gegenseitig ergänzen, reguliert.

Ein deutliches Absinken des Plasmacalciumspiegels induziert in den Epithelkörperchen die gesteigerte Abgabe von Parathormon, das wiederum durch die Stimulation der 25-Hydroxy-1-hydroxylase die vermehrte Synthese von 1,25-Dihydroxyvitamin $D_3$ veranlaßt (GARABEDIAN et al. 1972). Dadurch werden Calcium und Phosphat im Darm vermehrt absorbiert und durch gesteigerte Osteoklastentätigkeit aus dem Skelett mobilisiert (OMDAHL und DE LUCA 1973). Gleichzeitig vermindert das Parathormon die tubuläre Rückresorption von Phosphat, damit das zusammen mit dem Calcium aus den Knochen freigesetzte Phosphat eliminiert werden kann. Durch dieses Zusammenwirken von Parathormon und $1,25(OH)_2D_3$ wird der Blutcalciumspiegel bei konstantem Phosphatspiegel erhöht.

Nach Erhöhung des Calciumspiegels über die Norm greift das in den C-Zellen der Schilddrüse gebildete Calcitonin ein, indem es die Osteoklastentätigkeit im Skelett inhibiert und so den vermehrten Einbau von Calcium und Phosphat in die Knochen unterstützt.

Phosphor, der im Organismus meist als Phosphat vorliegt, erfüllt ebenfalls sehr wichtige Funktionen: als Bestandteil von Nucleinsäuren, wichtiger Proteine und Enzyme, als Donator und Speicher von Energie, Bestandteil der Knochen und Zähne u. a. Auch die Regulation des Phosphatstoffwechsels ist aufwendig und zum Teil mit der des Calciums verbunden. Das Phosphat des Blutplasmas steht, wie auch Calcium, in intensivem Ionenaustausch mit der Oberfläche der Apatitkristalle der Knochen.

Als weiteres Regelsystem sind die Epithelkörperchen unter Beteiligung der Nieren anzusehen. Erhöhung des Phosphatspiegels induziert (wie Hypocalcämie) erhöhte Parathor-

mon-Aktivität, wodurch die Nierenschwelle der Phosphatausscheidung durch Hemmung der Rückresorption gesenkt wird.

Hypophosphatämie induziert die Synthese von 1,25-Dihydroxyvitamin $D_3$ (TANAKA und DE LUCA 1973), durch das im Knochen Phosphat mobilisiert und im Dünndarm die Phosphatabsorption erhöht wird (CHEN et al. 1974). Die damit auch entstehende Hypercalcämie blockiert die Parathormon-Ausschüttung, wodurch die tubuläre Rückresorption von Phosphat in der Niere gesteigert wird. Unter hypophosphatämischen Bedingungen verfügt die Niere außerdem über einen Vitamin D- und Parathormon-unabhängigen Mechanismus, der die Phosphatretention in der Niere erhöht (DE LUCA 1979).

Beim Vogel wird durch Vitamin D-Mangel neben einer Hypocalcämie - im Gegensatz zum Säuger - eine Hyperphosphatämie ausgelöst, für die eine durch Vitamin D-Mangel verminderte Parathormon-Sekretion als Ursache angesehen wird (WASSERMAN und TAYLOR 1973).

Den Bedarf überschreitende Calcium- und Vitamin D-Versorgung führen, wie auch $1,25(OH)_2D_3$ selbst, zu einer Hemmung der 1-Hydroxylase. Aus 25-Hydroxyvitamin $D_3$ wird dann vermehrt 24,25-Dihydroxycholecalciferol gebildet, dessen Funktion bisher nicht geklärt ist. Es wird angenommen, daß dieser Metabolit eine Steigerung der Calcium- und Phosphat-Apposition im Skelett bewirkt (HENRY et al. 1976). Die weitere Metabolisierung zu dem noch polareren Stoffwechselprodukt 1,24,25-Trihydroxyvitamin $D_3$ wurde beobachtet (DE LUCA 1979).

## 1.4. Intestinaler Phosphat- und Calciumtransport

Eine übermäßige Aufnahme von Phosphat ist relativ selten, sie wird bei primärem Hyperparathyreoidismus und hohen Überdosierungen von Vitamin D beobachtet. Eine ungenügende Phosphatabsorption wird bei Vitamin D-Mangel (unabhängig vom Vorhandensein oder Fehlen von Calcium in der Nahrung), chronischem Nierenversagen, Hyperthyreoidismus und Hypoparathyreoidismus festgestellt.

Bei Untersuchungen der Lokalisation des Phosphattransportes, der Einflüsse, die den Transport durch die Mucosa verursachen und aufrechterhalten und der Beziehung zwischen Calcium- und Phosphattransport gelangen die verschiedenen Autoren oft zu unterschiedlichen Ergebnissen.

Unter normalen Bedingungen ist die Nettoabsorption von Phosphat proportional der Aufnahme. Obgleich beim Menschen die Absorption in erster Linie ein nicht limitierter, passiver Prozeß zu sein scheint, gewinnt bei Phosphatmangel in der Nahrung sicher der aktive Transport an Bedeutung (DE LUCA 1979).

WASSERMAN und TAYLOR (1973) folgerten aus ihren Untersuchungsergebnissen, daß der intestinale Calcium- und Phosphattransport unabhängig voneinander erfolgen und Phosphat - im Gegensatz zu Calcium - auch ohne ein spezifisches, mucosagebundenes Protein absorbiert würde.

Phosphat wird, wie auch Calcium, aktiv durch das Darmepithel transportiert. Dieser Vorgang ist energieabhängig, da er gegen ein elektrochemisches Potentialgefälle erfolgen muß. Er wird durch 1,25-Dihydroxyvitamin $D_3$ stimuliert. Bei

Versuchen mit nephrektomierten Tieren blieb 25-Hydroxycholecalciferol wirkungslos, so daß $1,25(OH)_2D_3$ oder ein weiterer Metabolit die aktive Substanz sein muß (CHEN et al. 1974).

Der Mechanismus, mit dem das Hormon den Calcium- und Phosphattransport stimuliert, ist noch nicht aufgeklärt, nur einzelne Reaktionen und Schritte sind bekannt.

So ist nicht sicher, ob das Hormon über eine Synthese neuer Proteine seine Wirkung entfaltet. Das wäre für dieses steroid-ähnliche Molekül, für das im Darm Rezeptoren mit hoher Affinität nachgewiesen wurden, durchaus möglich (WILSON und LAWSON 1977, PETERLIK et al. 1976).

Oder ob $1,25(OH)_2D_3$ auf völlig andere Weise wirkt, indem es die Lipidzusammensetzung der Bürstensaummembran und somit die Permeabilität für Calcium ändert (RASMUSSEN et al. 1979).

FUCHS und PETERLIK (1980) zeigten, daß ein kleiner Teil der Phosphataufnahme in isolierte Vesikel des intestinalen Bürstensaums Diffusionseigenschaften zeigt, Natrium-unabhängig ist und nicht auf Vitamin D reagiert, also parazellulär stattfinden könnte. Der größere Teil der Phosphataufnahme erfordert dagegen Natrium und wird durch Vitamin D reguliert.

Aufgrund ihrer Untersuchungen hielten PETERLIK und WASSERMAN (1977, 1978) die Aktivierung einer "Phosphat-Pumpe" auf der Mucosaseite des Darmes für einen erhöhten Phosphattransport vom Lumen zum Blut für verantwortlich. Vitamin D soll dabei über eine Änderung der Zellgene die Synthese von Proteinen steigern, die an dem Phosphattransport beteiligt sind (PETERLIK 1978).

Das Phosphat soll dann über einen "channelized transport" auf direktem Wege von der mucösen zur serösen Zellwand gelangen, ohne sich mit dem intrazellulären Phosphat zu mischen (PETERLIK und WASSERMAN 1978). Diese Forderung hatten bereits 1969 KOWARSKI und SCHACHTER gestellt.

Nach DANISI et al. (1980) sollte $1,25(OH)_2D_3$ Carrier beeinflussen, die an der Mucosaseite der Zelle für den Natrium-abhängigen Phosphat-Eintritt zur Verfügung stehen.

Die intestinale Calciumaufnahme erfolgt ebenfalls zu einem großen Teil durch aktiven Transport, der Vitamin D abhängig ist (ROSEN und SCHACHTER 1959). Im Vergleich zum Phosphat erfolgt die Calciumaufnahme wahrscheinlich zu einem größeren Anteil durch Diffusion, da der intrazelluläre Calciumgehalt niedriger ist als der extrazelluläre. Dadurch ist der passive Einstrom von Calcium in die Zelle erleichtert.

Über die Vorgänge, die bei der Calciumaufnahme auf zellulärer und molekularer Ebene erfolgen, bestehen verschiedene Auffassungen. So soll der Vitamin $D_3$-abhängige Transportmechanismus im Bürstensaum (ADAMS et al. 1970), intrazellulär (FREEDMAN et al. 1977) oder an der basolateralen Seite der Darmzelle lokalisiert sein (SCHACHTER et al. 1966).

Nach MARTIN und DE LUCA (1969 a) sollte bei Vitamin D-Mangel der Transport durch den Bürstensaum der limitierte Schritt sein. Der Transport könnte an eine Calcium-abhängige ATP-ase, deren Aktivität unter Vitamin D zunimmt (MELANCON und DE LUCA 1970), an eine aktivitätsgesteigerte alkalische Phosphatase (NORMAN et al. 1970) und/oder an ein Calcium-bindendes und -transportierendes Protein gekoppelt sein. Ein solches Calcium-bindendes Protein (CaBP) wurde durch WASSERMAN und TAYLOR (1966) beim Küken und durch KALLFELZ et al. (1967) bei der Ratte nachgewiesen. Es bindet Calcium im Verhältnis

1 : 1. Andere Erdalkalimetalle wie Strontium, Barium und Magnesium wurden von dem CaBP mit geringerer Affinität gebunden (WASSERMAN et al. 1968).

Es konnte eindeutig gezeigt werden, daß das Vorhandensein von CaBP in der Darmmukosa allein von der Gegenwart von Vitamin $D_3$ oder einem der aktiven Metaboliten, d. h. $25OHD_3$, $1,25(OH)_2D_3$ oder $24,25(OH)_2D_3$, abhängig ist (NORMAN 1979). Bei Vitamin D-Mangel konnte weder bei Ratten noch bei Küken CaBP nachgewiesen werden (HARMEYER und DE LUCA 1969).

SPENCER et al. (1978) stellten fest, daß bei Gabe von $1,25(OH)_2D_3$ an rachitische Küken zuerst die Calciumaufnahme gesteigert wurde und erst 1 - 2 Stunden später das CaBP immunologisch nachweisbar war. Sie sahen das CaBP als ein intrazelluläres Protein an, das infolge des erhöhten Calciumgehaltes der Darmzelle gebildet wird. Sein Vorhandensein soll mehr an die Absorptionsfähigkeit als an eine tatsächliche Calciumabsorption gebunden sein. Es soll den stimulierten Calciumtransport aufrecht erhalten, nachdem er durch andere Faktoren ausgelöst wurde.

KOWARSKI und SCHACHTER (1975) fanden in der Mucosa von Ratten eine zweite Vitamin D-abhängige, Calcium-bindende Aktivität, die sie "calcium-binding complex" (CaBC) nannten. Dieser CaBC soll einen Membranbestandteil des Mechanismus darstellen, mit dem das Calcium durch den Bürstensaum transportiert wird, da er direkt mit dem Calciumtransport korreliert ist. In weiteren Untersuchungen isolierten sie ein Protein, das sich durch sein Molekulargewicht deutlich vom CaBP unterscheidet (KOWARSKI und SCHACHTER 1980).

MAC LAUGHLIN et al. (1980) fanden einen biphasischen Verlauf der $1,25(OH)_2D_3$-abhängigen Calciumaufnahme in Vesikel

der Golgi-Membranen. Der erste Peak dieser Calciumaufnahme erschien 15 - 30 Minuten nach der i. v. Applikation von $1,25(OH)_2D_3$ bei D-depletierten Ratten. Damit stellte er eine der ersten Wirkungen des $1,25(OH)_2D_3$ auf die Calciumaufnahme dar, über die bis jetzt berichtet wurde.

Neben diesen direkten Einflüssen des Vitamin D auf die Calcium- und Phosphataufnahme im Darm sind auch mehrere sekundär bedingte Wirkungen des Vitamins bekannt.

Bei Calciumzufuhr im Bereich des Bedarfes steht der Resorptionskoeffizient von Säugern in Beziehung zum Alter der Tiere: er sinkt mit zunehmendem Wachstum. Ähnliche Verhältnisse liegen beim Geflügel vor, doch ist bei Legehennen während der Eischalenmineralisation die Calciumresorption deutlich gesteigert. Auch die Fähigkeit der Phosphatabsorption nimmt mit zunehmendem Alter ab, doch bleibt sie im Vergleich zum Calcium relativ hoch.

Nach ARMBRECHT et al. (1979) konnten Ratten bis zum Alter von etwa 3 Monaten Calcium aktiv absorbieren. Doch mit zunehmendem Alter verloren sie fast ganz die Fähigkeit, auf einen reduzierten Calciumgehalt des Futters mit einem gesteigerten Calciumtransport zu reagieren.

Da während der Säugeperiode die intestinale Calciumaufnahme bei Ratten unempfindlich gegenüber 1,25-Dihydroxyvitamin $D_3$ sein soll, wurde der relativ hohe Calciumgehalt der Rattenmilch (300 mg/100 ml) in Zusammenhang mit passiver Diffusion als Ursache für die Aufrechterhaltung des Plasma-Calciumspiegels angesehen (HALLORAN und DE LUCA 1980). Für die Erhaltung eines normalen Plasma-Calciumspiegel des Säuglings könnte die Laktose mitverantwortlich sein, da sie die passive Calciumaufnahme im Darm erhöht (ARMBRECHT und WASSERMAN 1976, CHANG und HEGSTED 1964).

RIZZOLI et al. (1977) beobachteten bei Ratten, daß die Steigerung der intestinalen Phosphatabsorption durch einen niedrigen Phosphatgehalt des Futters an das Vorhandensein der Schilddrüse und der Epithelkörperchen gebunden war.

Vitamin D stimulierte bei rachitischen Ratten und Küken im gesamten Dünndarm den Phosphattransport, am meisten jedoch im Jejunum (KOWARSKI und SCHACHTER 1969, PETERLIK und WASSERMAN 1978 a). Nach CHEN et al. (1974) war der Vitamin D-abhängige Calciumtransport dagegen im Duodenum am höchsten.

## 1.5. Bestimmungsmethoden der Calcium- und Phosphataufnahme in vivo und in vitro

Sowohl mit einer in vivo als auch mit einer in vitro Meßmethode sind etwa 10 - 50 I.E. (100 - 1250 ng) Vitamin D nachweisbar. Für die Aktivitätsbestimmung wird D-depletierten Tieren das Vitamin D oder eine andere Substanz mit Vitamin D-ähnlicher oder -vermuteter Wirkung vor der Untersuchung appliziert. Diese Verabreichung kann als einmalige Gabe oder über einen längeren Zeitraum oral oder parenteral erfolgen.

Die in vivo Technik zur Messung der Calciumabsorption beim Küken wurde zum ersten Mal von COATES und HOLDSWORTH (1961) beschrieben und später von HIBBERD und NORMAN (1969) modifiziert. Küken wird unter Narkose in die Duodenalschlinge eine $^{45}Ca$-Lösung injiziert und die Wundöffnung wieder verschlossen. 30 Minuten später werden die Tiere getötet und Blutproben gewonnen. Die Steigerung der Calciumabsorption läßt sich aus dem Verhältnis vom $^{45}Ca$ zum Gesamtcalciumgehalt des Serums bestimmen. Diese Methode wurde häufig für Aktivitätsbestimmungen von Metaboliten verwendet (MYRTLE und NORMAN 1971, HAUSSLER et al. 1973, NORMAN et al. 1975).

Ein in vitro Verfahren ist die everted-gut-sac-Methode nach WILSON und WISEMAN (1954): gewendete Darmstücke werden abgebunden und mit einer Lösung gefüllt, die in ihrer Zusammensetzung und Radioaktivität dem Inkubationsmedium entspricht. Die Änderung der Calciumkonzentration während der Inkubationszeit ist direkt dem Transport von der Mucosa zur Serosa proportional. Dieses Verfahren wurde ebenfalls viel verwendet (MARTIN und DE LUCA 1969 b, TAYLOR 1974, PETERLIK und WASSERMAN 1978 a), besonders auch bei der Untersuchung calcinogener Pflanzen (PETERLIK et al. 1977, PETERLIK und WASSERMAN 1978 b).

Ein weiteres in vitro Verfahren ist die Ussing-Kammer (USSING und ZEHRAN 1951), in der ein Darmstück definierter Fläche als Membran zwischen zwei Medien eingespannt wird. Mit dieser Vorrichtung kann die Calcium- bzw. Phosphatbewegung in beiden Richtungen, also sowohl von der Mucosa zur Serosa als auch von der Serosa zur Mucosa, bestimmt werden (WALLING und ROTHMAN 1969, WALLING und KIMBERG 1973).

CORRADINO (1973) zeigte, daß Gewebekulturen vom embryonalen Kükendarm ebenfalls geeignet sind, die Wirkungen von Vitamin D und seinen Metaboliten auf den Calciumtransport zu untersuchen. Dieses Modell wurde später auch für Untersuchungen des Phosphattransportes verwendet (PETERLIK 1978).

## 2. PROBLEMSTELLUNG

Eine Erklärung für die massiven Verkalkungen der Weidetiere nach längerer Aufnahme von Goldhafer wäre die Annahme, daß außer Vitamin $D_3$ und Vitamin $D_3$-Estern - mit einer Aktivität von etwa 4.000 I.E. Vitamin $D_3$ pro Kilo Goldhafer-Trockensubstanz - noch eine andere Wirkungskomponente im Goldhafer enthalten sei. Da sich das Vitamin $D_3$ und die Vitamin $D_3$-Ester im Ätherextrakt anreichern, sollte der Goldhafer auch mit Wasser extrahiert werden, um zu sehen, ob in der wasserlöslichen Fraktion des Goldhafers eine weitere aktive Komponente vorliegt. Außerdem sollte untersucht werden, ob sich der Rückstand des Ätherextraktes und der Wasserextrakt in ihrer Wirkung entsprechen.

Als Parameter zur Bestimmung der Vitamin D-artigen Aktivität der verschiedenen Komponenten diente die Messung des Calcium- und Phosphattransportes am Kükendarm. Es wurde die everted-gut-sac-Methode gewählt.

Um zwischen dem Einfluß von Vitamin $D_3$ und dem seiner 1$\alpha$-hydroxylierten Metaboliten unterscheiden zu können, sollte zur Hemmung der 1$\alpha$-Hydroxylase und damit der Metabolisierung von Vitamin $D_3$ dem Futter Strontium zugesetzt werden. Auf diese Weise kann geprüft werden, ob im Goldhafer eine metabolitartige Wirkungskomponente enthalten ist, die durch die Strontiumfütterung nicht gehemmt wird und sich dadurch von Vitamin $D_3$ und dem Vitamin $D_3$-Ester unterscheidet. Weiter sollte, falls eine solche Komponente im Goldhafer festgestellt werden könnte, untersucht werden, in welcher Fraktion des Goldhafers (Ätherextrakt, Ätherextraktrückstand, Wasserextrakt) sie enthalten ist.

Im Vergleich zu Goldhafer wurde Solanum malacoxylon, das $1,25(OH)_2D_3$-Glykosid enthält und freies $1,25(OH)_2D_3$ untersucht.

Bei Küken, deren Futter in hohen Konzentrationen bakterielles Einzellerprotein (SCP) enthielt, waren wiederholt die Symptome einer Rachitis aufgetreten. Deshalb sollte im zweiten Teil dieser Arbeit untersucht werden, ob Transportunterschiede zwischen diesen "rachitischen" Tieren und den Tieren, die eine protein-äquivalente Mischung von Sojafeinmehl und isoliertem Sojaprotein erhielten, bestehen.

Ferner sollte untersucht werden, ob Unterschiede zwischen den keimfrei und konventionell gehaltenen Tieren im Calcium- und Phosphattransport bestehen.

Da ein großer Unterschied in der Gewichtsentwicklung der verschiedenen Gruppen erwartet wurde, sollte auch geprüft werden, ob der Calcium- und Phosphattransport dieser Tiere in einer bestimmten Beziehung zu ihrem Lebendgewicht steht. Schließlich sollte untersucht werden, ob die Calcium- und Phosphataufnahme des Darmgewebes bei den verschiedenen Gruppen in einem bestimmten Verhältnis zum aktiven Transport steht.

# 3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

## 3.1 Versuchsaufbau

Die Versuchsreihe bestand aus sechs Einzelversuchen mit männlichen Hühnerküken. Um eine Vitamin D-Depletion zu erreichen, wurde den Tieren der Versuche I bis V in einer Vorperiode Vitamin D-freies Futter verabreicht. In der anschließenden Versuchsperiode erhielten die verschiedenen Versuchsgruppen Vitamin $D_3$, 1,25-Dihydroxyvitamin $D_3$, Goldhafer in verschiedenen Aufbereitungsformen (Mehl, Ätherextrakt, Wasserextrakt, Rückstände der Extrakte), Solanum malacoxylon bzw. keine Vitamin D-artigen Substanzen (Kontrollgruppen) zugemischt.

Um zu prüfen, inwieweit die verschiedenen Futterzusätze die Strontiumhemmung in der Niere überwinden können, wurde Calcium zum Teil durch Strontium ersetzt.

Am Ende der Vorperiode wurde jedes Küken gewogen und die Tiere mit den niedrigsten und höchsten Gewichten eliminiert. Die übrigen wurden so zu Gruppen zusammengestellt, daß sie je annähernd das gleiche Gesamtgewicht hatten und die Gewichtsverteilung innerhalb einer Gruppe der Gewichtsverteilung aller verwendeten Tiere entsprach. Zur Kennzeichnung wurde jedem Tier eine Flügelmarke eingezogen.

Die Aufstellungsart der Käfige (siehe 3.2.) gewährleistete im ganzen Stall gleiche Temperatur- und Lichtverhältnisse, so daß aufgrund der geringen Gruppengröße (5 bis maximal 8 Tiere) auf eine Aufteilung jeder Gruppe in mehrere Käfige verzichtet wurde.

Die oben geschilderten Haltungs- und Versuchsbedingungen treffen für die Versuche I bis V zu. Einzelne Daten zum Versuchsaufbau können der Tabelle 1 entnommen werden.

Die Haltungs- und Fütterungsbedingungen der Küken, die im Versuch VI verwendet wurden, wichen wesentlich von den übrigen Versuchen ab. Die eine Hälfte der Tiere wurde keimfrei aufgezogen, die andere Hälfte unter normalen Haltungsbedingungen. Als Testfutter dienten zwei verschiedene Mischungen: eine auf der Basis von Sojafeinmehl und reinem Sojaprotein (= Soja-Ration), die andere auf bakteriellem Einzellerprotein (= SCP-Ration) basierend. Von den keimfrei und konventionell gehaltenen Tieren bekam je eine Gruppe während der gesamten Versuchsdauer (4 Wochen) die Soja- bzw. SCP-Diät (Gruppen A und AA bzw. C und CC). Je eine Gruppe der keimfrei und konventionell gehaltenen Küken erhielt in den ersten beiden Lebenswochen die Soja-Ration und dann das SCP-Futter (Gruppe B und BB). Bei den Gruppen D und DD wurden die zwei Diätarten in umgekehrter Reihenfolge gefüttert (SCP / Soja). So erhielt man durch die verschiedenen Haltungsarten und Rationsverteilungen acht unterschiedliche Gruppen, die den Vergleich zwischen Soja- und SCP-gefütterten Tieren unter keimfreien und konventionellen Bedingungen ermöglichten:

| | keimfrei | konventionell |
|---|---|---|
| Soja / Soja | A | AA |
| Soja / SCP | B | BB |
| SCP / SCP | C | CC |
| SCP / Soja | D | DD |

Tabelle 1 Übersicht Versuche I bis V

| Versuch | I | II | III | IV | V |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorperiode (Tage) | 13 | 10 | 10 | 13 | 10 |
| Versuchsperiode (Tage) | 6/7/8/9/12 | 5/6/7 | 5/6/7 | 5/6 | 5/6 |
| Vorperiode (Küken) | 55 | 70 | 75 | 75 | 80 |
| Versuchsperiode (Küken) | 35 | 48 | 49 | 49 | 49 |
| Anzahl der Versuchsgruppen | 7 | 6 | 7 | 7 | 7 |
| Anzahl der Küken pro Versuchsgruppe | 5 | 8 | 7 | 7 | 7 |

Die konventionell gehaltenen Tiere wurden auf drei Käfige pro Ration im Raum verteilt. Bei den keimfreien Küken stellte jede Isolatoreinheit eine Gruppe dar.

Am Versuchsende wurde jedes Küken gewogen und zur Identifizierung eine Flügelmarke eingezogen. Die Auswahl der Küken für die Transportstudien (6 Tiere pro Gruppe) erfolgte innerhalb jeder Gruppe willkürlich.

Bei allen Versuchen wurde als Versuchskriterium im Jejunum der Phosphat- und Calciumtransport mit der everted-gut-sac-Methode bestimmt. Im Versuch VI wurde zusätzlich die Aufnahme von Phosphat und Calcium in die Darmwand bestimmt.

## 3.2 Versuchstiere und Haltungsbedingungen

Um eine Beeinflussung des Vitamin $D_3$-Metabolismus durch Östrogene zu vermeiden, wurden in den Versuchen I bis V nur männliche Broiler (Lohmann Broiler B 975) verwendet. Sie wurden als Eintagsküken von einer Brüterei* bezogen. Broilern wurde gegenüber einer Leghornrasse der Vorzug gegeben, da ihr Calcium-Stoffwechsel infolge ihrer Schnellwüchsigkeit empfindlicher auf einen Vitamin D-Mangel reagiert.

Die Tiere wurden in Plastikkäfigen gehalten, die sich in 60 cm Höhe in zwei Reihen gegenüberstanden. Jeder Käfig hatte eine Fläche von 0,5 $m^2$ und war 33 cm hoch. Der Kot fiel durch Maschendraht auf eine Torfmullschicht. Futter-

---

* Brüterei Süd, 8413 Regenstauf bzw. Brüterei Nord, 2190 Cuxhaven

und Wasseraufnahme erfolgte ad libitum.

Der Stall war fensterlos, als Lichtquelle dienten sechs Leuchtstoffröhren (24-Stunden-Dauerlicht). Die Temperatur wurde von 32° C zu Versuchsbeginn jeweils bis Versuchsende auf ca. 28° C reduziert.

Die Küken für den keimfreien Versuch VI wurden unter sterilen Bedingungen erbrütet (Lohmann Broiler B 975). Es wurden männliche und weibliche Tiere verwendet. Die Aufzucht der "Keimfrei-Küken" erfolgte in vier Stahlisolatoren (Fa. Metall und Plastik, Radolfszell). Die "Konventionell-Küken" wurden in einem fensterlosen Stall in Käfigen aus Maschendraht aufgestallt. Beide Gruppen erhielten Dauerlicht, die Temperatur wurde von anfangs 32° C auf 26° C am Ende der 4. Woche eingestellt. Futter und Wasser standen zur freien Aufnahme zur Verfügung.

### 3.3. Fütterung

Die Versuche I - V bestanden aus je zwei Abschnitten: einer 10-tägigen Vorperiode und einer 5-tägigen Versuchsperiode. Zum Teil mußte aus technischen Gründen von diesem Schema abgewichen werden (siehe Übersichtstabelle 1).

Während der Vorperiode erhielten alle Küken ein rachitogenes Alleinfutter, das völlig Vitamin $D_3$-frei war. Da in Versuch I und II während der Vorperiode hohe Tierverluste auftraten (siehe 4.2.), wurde ab Versuch III den Tieren das Vorperiodenfutter in leicht abgeänderter Rezeptur angeboten. Der Fettanteil und Sojaschrot wurden zugunsten der Maisstärke vermindert, dadurch wurde das Futter im Vergleich zu der ersten Mischung "trockener". Tabelle 2 zeigt eine Gegenüber-

stellung der zwei Varianten des Vorperiodenfutters. Der Gehalt an Phosphor betrug 0,6 %, Calcium 1,0 % des Futters.

Als Grundmischungen für die Versuchsperiode dienten zwei verschiedene Basaldiäten. Die Basaldiät 1 (= "Ca-Basaldiät") enthielt 1 % Calcium, die Basaldiät 2 (= "Sr-Basaldiät") 0,4 % Calcium und 1,32 % Strontium, jeweils als Carbonate zugesetzt (siehe Tabelle 4). Der Gehalt an Phosphor betrug je 0,6 %.

Goldhafer und Goldhaferextraktionsrückstände wurden den Basaldiäten zu Lasten des Maisstärkeanteiles eingemischt. Dafür wurde in den übrigen Rationen in den Versuchen I und II der gleiche Teil Maisstärke durch Luzernegrünmehl ersetzt.

Die Ergebnisse des Versuches II führten zur Vermutung, das verwendete Grünmehl besitze eine gewisse Vitamin D-Aktivität. Deshalb wurde in den folgenden Versuchen (III, IV und V) anstatt des Grünmehls ein "Goldhafer-Ersatz" eingemischt. Dessen Zusammenstellung wurde nach der "natürlichen" Goldhafer-Trockensubstanz ausgerichtet (siehe Tabelle 5).

Solanum malacoxylon wurde den Basaldiäten ohne Korrektur der Futterstruktur zugemischt.

Bezüglich der Verwendung weiterer Futterkomponenten wird auf den Abschnitt 3.4 hingewiesen.

In Versuch VI wurden zwei von den anderen Versuchen stark abweichende Futtermischungen eingesetzt. Die Zusammensetzungen zeigen die Tabellen 6 und 9. Der sehr hohe Vitamingehalt der Diäten ist durch die Notwendigkeit des Sterilisierens bedingt. Dieser Behandlung wurde die gesamte Futtermenge, also auch die für die konventionell gehaltenen Tiere, unterzogen. Da aus früheren Versuchen (GROPP 1981) bekannt war, daß bei den SCP-Gruppen unter starken rachitischen Symptomen

Tabelle 2 Futterkomponenten der Vorperiode

| Versuch | I, II | III, IV, V |
|---|---|---|
| Komponenten in % | | |
| Sojaschrot, fein, 44 % RP | 60,00 | 55,00 |
| Native Maisstärke | 21,26 | 31,26 |
| Sojaöl | 15,00 | 10,00 |
| $CaCO_3$ | 1,50 | 1,50 |
| $CaHPO_4 \times 2\ H_2O$ | 1,08 | 1,08 |
| Vitamin- und Spurenelementvormischung* | 0,50 | 0,50 |
| NaCl | 0,40 | 0,40 |
| DL-Methionin | 0,26 | 0,26 |

* Zusammensetzung vgl. Tabelle 3

Tabelle 3 Vitamin- und Spurenelementvormischung
(für Vorperiode und Basaldiät 1 und 2)

Gehalt in 5 g = pro kg der fertigen Futtermischung

| Komponenten | |
|---|---|
| Retinol (5.000 I.E. Vitamin A) | 1,5 mg |
| α-DL-Tocopherolacetat | 120,0 mg |
| Thiamin | 2,0 mg |
| Nicotinsäure | 40,0 mg |
| Ca-Pantothenat | 12,0 mg |
| Riboflavin | 4,0 mg |
| Pyridoxin | 2,0 mg |
| Cyanocobalamin | 20,0 mcg |
| Vitamin $K_3$ | 1,0 mg |
| Eisenfumarat | 100,0 mg |
| $MnSO_4 \times H_2O$ | 200,0 mg |
| $ZnSO_4 \times 7\ H_2O$ | 200,0 mg |
| Cholinchlorid | 1500,0 mg |
| Sojafeinmehl | ad 5 g |

Tabelle 4 Basaldiäten der Versuchsperiode

| Komponenten in % | Basaldiät 1 "Ca-Basaldiät" | Basaldiät 2 "Sr-Basaldiät" |
|---|---|---|
| Sojaschrot, fein, 44 % RP | 52,00 | 52,00 |
| Native Maisstärke | 35,07 | 34,37 |
| Sojaöl | 9,00 | 9,00 |
| $CaCO_3$ | 2,18 | 0,68 |
| $SrCO_3$ | - | 2,20 |
| $NaH_2PO_4 \times 2\ H_2O$, reinst | 1,00 | 1,00 |
| Vitamin- und Spurenelementvormischung* | 0,50 | 0,50 |
| DL-Methionin | 0,25 | 0,25 |

*Zusammensetzung siehe Tabelle 3

Tabelle 5 "Goldhafer-Ersatz"-Mischung

| Komponenten in % | |
|---|---|
| Stärke | 50,0 |
| Cellulose | 33,0 |
| Casein | 10,0 |
| Aschevormischung* | 5,0 |
| Sojaöl | 2,0 |

*Aschevormischung

| Komponenten in % | |
|---|---|
| KCl | 40,0 |
| $CaHPO_4$ | 30,0 |
| Bleicherde | 20,0 |
| $CaCO_3$ | 10,0 |

Tabelle 6 Soja-Ration

| Komponenten in % | |
|---|---|
| Purina$^{R}$ (= isoliertes Sojaprotein, 100 % RP) | 22,360 |
| Sojafeinmehl | 29,260 |
| Luprosil$^{R}$ (= Ca-propionat) | 0,500 |
| $Na_2HPO_4$ | 0,942 |
| NaCl | 0,544 |
| $CaCO_3$ | 0,449 |
| $CaHPO_4$ x 2 $H_2O$ | 4,411 |
| MgO | 0,187 |
| KCl | 0,421 |
| Cellulose | 2,000 |
| Vitaminvormischung* | 3,000 |
| Spurenelementvormischung** | 0,100 |
| DL-Methionin | 0,485 |
| Glycin | 0,669 |
| Sojaöl | 7,000 |
| Chromoxid | 0,500 |
| Native Maisstärke | 26,260 |
| Lupolen | 0,912 |

*Zusammensetzung siehe Tabelle 7

** siehe Tabelle 8

Tabelle 7 Vitaminvormischung
(für keimfreies Kükenfutter)

Gehalt in 3 g = pro Kg der fertigen Futtermischung

| Komponenten | mg |
|---|---|
| Retinol (20.000 I.E. Vitamin A) | 40,0 |
| Vitamin $D_3$ (4.000 I.E.) | 8,0 |
| α-DL-Tocopherolacetat | 200,0 |
| Thiamin | 100,0 |
| Riboflavin | 50,0 |
| Pyridoxin | 20,0 |
| Cobalamin | 0,2 |
| Biotin | 0,5 |
| Folsäure | 5,0 |
| Ca-pantothenat | 40,0 |
| Nikotinsäure | 100,0 |
| Cholinchlorid | 2000,0 |
| meso-Inosit | 100,0 |
| p-Aminobenzoesäure | 2,0 |
| Ascorbinsäure | 200,0 |
| Native Maisstärke | ad 3,0 g |

Tabelle 8 Spurenelementmischung

| Spurenelemente in 1 kg Futter | mg |
|---|---|
| Eisen (aus Eisenfumarat) | 100,0 |
| Zink (aus Zinkacetat x 2 $H_2O$) | 80,0 |
| Mangan (aus Mangansulfat x $H_2O$) | 80,0 |
| Kupfer (aus Kupferacetat x $H_2O$) | 12,0 |
| Jod (aus Kaliumjodid) | 2,5 |
| Kobalt (aus Kobaltsulfat x 7 $H_2O$) | 1,0 |
| Selen (aus Natriumselenit x 5 $H_2O$) | 0,5 |
| Fluor (aus Natriumfluorid) | 5,0 |
| Magnesium (aus Magnesiumoxid) | 70,0 |

Tabelle 9 SCP-Ration

| Komponenten in % | |
|---|---|
| Probion$^{R}$ FM 430 (= bakt. Einzellerprotein) | 51,620 |
| Luprosil$^{R}$ (= Ca-propionat) | 0,500 |
| NaCl | 0,669 |
| $CaCO_3$ | 2,855 |
| K-acetat | 0,959 |
| Na-acetat x 3 $H_2O$ | 1,456 |
| MgO | 0,131 |
| Cellulose | 2,000 |
| Vitaminvormischung* | 3,000 |
| Spurenelementvormischung** | 0,100 |
| DL-Methionin | 0,183 |
| L-Arginin HCl | 0,181 |
| Sojaöl | 3,000 |
| Chromoxid | 0,500 |
| Native Maisstärke | 32,846 |

* Zusammensetzung Tabelle 7

** siehe Tabelle 8

große Verluste vorkamen, wurden 4.000 I.E. Vitamin $D_3$ pro Kilo Futter zugesetzt. Dadurch wird nach bisherigen Erfahrungen die Rachitis nicht völlig zum Abklingen gebracht, aber doch deutlich vermindert.

Der Phosphorgehalt der Sojaration wurde dem hohen Phosphorgehalt des Einzellerproteins (2,53 % des SCP) angeglichen und beiden Rationen soviel Calcium zugemischt, daß das Phosphor-/Calciumverhältnis je 1 : 1,13 betrug (Calciumgehalt 1,47 %, Phosphor 1,31 %).

Bezüglich der Charakterisierung des verwendeten Einzellerproteins wird auf die Ausführungen unter 3.4 hingewiesen.

## 3.4 Herkunft und Einsatz der Diätvariablen

### Goldhafer

Goldhafer wurde als Monokultur der Sorte "Trisett 51" auf dem Lehr- und Versuchsgut Oberschleißheim der Universität München angebaut. Bereits während der Ernte wurde das Gras in Plastiksäcke abgefüllt und sofort bei -20° C eingefroren. Die weitere Aufbereitung des Materials, Lyophilisation und Mahlen, erfolgte erst direkt vor der Verwendung im Versuch. Die Versuche I, II und IV wurden mit Goldhafer vom Schnitt August '78 durchgeführt, in den Versuchen III und V wurde mit im Juli '80 geerntetem Material gearbeitet.

Goldhafer wurde je nach den Anforderungen der Versuchsanordnung in verschiedenen Zubereitungsformen verwendet: gemahlen, als Diäthylätherextrakt, als Rückstand dieses Ätherextraktes und als Wasserextrakt.

Zur Herstellung des Ätherextraktes wurden je 100 g Goldhafermehl mit 500 ml Diäthyläther angesetzt. Nach ca. 16 Stunden wurde dieser Ansatz über eine Nutschflasche mit Weißbandfilter abfiltriert. Dabei wurde solange mit Diäthyläther nachgespült, bis das Filtrat nahezu farblos war. Der so gewonnene Extrakt wurde unter Erwärmen im Rotationsverdampfer eingeengt, und ins Futter eingemischt.

Zur Herstellung des Wasserextraktes wurde 100 g Goldhafermehl mit 0,5 Liter Wasser versetzt, nach ca. 16 Stunden über eine Nutschflasche mit Weißbandfilter abfiltriert und bis zur Entfärbung des Filtrats mit Wasser nachgespült. Um temperaturempfindliche Inhaltsstoffe zu schonen, erfolgte die Einengung des Wasserextraktes im Rotationsverdampfer im Vacuum, wobei nur wenig erwärmt wurde.

Die Rückstände der Extrakte wurden an der Luft getrocknet und ins Futter eingemischt.

Solanum malacoxylon

Solanum malacoxylon wurde freundlicherweise von der Firma Lohmann Tierernährung GmbH, Cuxhaven, zur Verfügung gestellt. Das untersuchte Material wurde in Brasilien geerntet und luftgetrocknet. Die gemahlenen Blätter wurden den Basaldiäten eingemischt.

Bakterielles Einzellerprotein (SCP)

Es wurde die vom Bakterium Methylomonas (= Pseudomonas) clara auf Methanol gebildete Substanz "Probion FM 430" der Firma Höchst / Frankfurt a. Main verwendet.

Dieses SCP enthielt ca. 78 % Rohprotein und 8 % Rohfett.

Vitamin $D_3$, 1,25-Dihydroxyvitamin $D_3$

Das kristalline Vitamin D-Präparat (Fa. Merck, Art-Nr. 8523) enthielt in 1 g 40 Mill. I.E. Vitamin $D_3$. Die gewünschte Menge wurde in ca. 150 ml Petroläther gelöst und damit ein Teil der bereits gemischten Ration übergossen und gut durchmengt. Anschließend wurde der Petroläther über einem Wasserbad abgedampft und die behandelte Futtermenge dem Rest der Ration untergemischt.

$1,25(OH)_2D_3$ wurde freundlicherweise von der Fa. Hoffmann - La Roche und Co. AG zur Verfügung gestellt. Es wurde äquimolar abgewogen und in Äthanol gelöst. Die weitere Verdünnung mit Petroläther und Einmischung ins Futter erfolgte sinngemäß in der oben beschriebenen Weise.

## 3.5. Versuchsanordnung der Darmtransportstudien

Der intestinale Calcium- und Phosphattransport wurde mit der everted-gut-sac-Methode nach WILSON und WISEMAN (1954) bestimmt.

Die Küken wurden durch Genickschlag getötet und sofort ca. 20 cm Jejunum entnommen: der cranial vom Dottersack gelegene Darmabschnitt wurde für den Calciumtransport, der caudale für den Phosphattransport verwendet. Die Darmstücke wurden in eiskaltem Krebs-Henseleit-Bikarbonatpuffer* abgekühlt und mit Hilfe eines flexiblen Katheders gewendet. Dann wurde ein Ende zugebunden, das Darmstück mit 1 ml (32° C warmen) Puffer gefüllt (= seröses Medium) und so abgebunden, daß der Darm ein mäßig prall gefülltes Säckchen bildete. Nach dem Wiegen wurde es in einen 100 ml Erlenmeyerkolben verbracht, der 20 ml $^{45}Ca$- bzw. $^{32}P$-Stammlösung** enthielt (= mucöses Medium), die je 30 Sekunden mit Carbogen (95 % $O_2$, 5 % $CO_2$) begast wurde. Die Kolben wurden luftdicht verschlossen und 30 Minuten im Wasserbad bei 32° C geschüt-

---

* Zusammensetzung des Krebs-Henseleit-Bikarbonatpuffers (im Folgenden nur Puffer genannt):

100 Teile 0,154 m NaCl-Lösung (0,9%)
4 Teile 0,154 m KCl-Lösung (1,15 %)
3 Teile 0,11 m $CaCl_2$-Lösung
1 Teil 0,154 m $KH_2PO_4$-Lösung (2,11 %)
1 Teil 0,154 m $MgSO_4$ x 7 $H_2O$-Lösung (3,82 %)
21 Teile 0,154 m $NaHCO_3$-Lösung (1,3 %)

** $^{32}P$-Stammlösung: 20 µ Ci $^{32}P$/l Puffer
$^{45}Ca$-Stammlösung: 20 µ Ci $^{45}Ca$/l Puffer
$^{32}P$, $^{45}Ca$: Amersham Buchler, Braunschweig

telt (120 Schüttelbewegungen / min.). Nach der Inkubation wurde das Säckchen wieder gewogen und dann entleert.

Zur Transportbestimmung wurden 0,5 ml des serösen Mediums mit 0,5 ml 0,65 n Perchlorsäure versetzt (Proteinfällung) und 10 min. zentrifugiert. Vom Überstand wurden 0,5 ml in ein Zählfläschchen abpipettiert. In gleicher Weise wurden von jeder Stammlösung je zwei Zählfläschchen präpariert, um die Anfangsaktivität des Inkubationsmediums zu erhalten (= Standard). Nach Zugabe von 10 ml Szintillationsflüssigkeit (Unisolve I, Zinsser) wurde der Fläschcheninhalt kräftig geschüttelt.

Die Messung der Aktivität in cpm (counts per minute) wurde in einem Flüssigkeitsszintillationszähler (Packard TRI-CARB, Mod. 3385) durchgeführt. (10 min / Probe.)

Für die Bestimmung des Darmtrockengewichtes wurden die entleerten Darmsäckchen zwichen den Ligaturen asserviert und 48 Stunden bei 70° C getrocknet.

Für die im Versuch VI gemessene Gewebeaufnahme des Darmes an Phosphat und Calcium wurde vor dem Trocknen der Darmstücke je ca. 40 mg Gewebe entfernt und in Zählfläschchen gegeben. Als negative Kontrolle diente ein Darmstückchen, das nur im Puffer inkubiert worden war, den Standard bildeten je 0,2 ml der Stammlösungen. In alle Zählfläschchen wurde zur Gewebeauflösung 1 ml Soluene (Packard) pipettiert und ca. 15 Stunden bei 30° C inkubiert. Nach Zugabe von 10 ml einer Szintillationsflüssigkeit (Toluene, Packard) wurden die Proben wie oben angegeben gemessen.

### 3.5.1 Berechnung des Calcium- und Phosphattransportes

Die Angaben des Calcium- und Phosphattransportes erfolgten in n mol Ca bzw. P pro Gramm Darmtrockengewicht pro Minute (n mol/g/min).

In der oben beschriebenen Versuchsanordnung wurde ermittelt, wieviel von der im mucösen Medium enthaltenen Radioaktivität nach 30-minütiger Inkubation im serösen Medium nachweisbar war, also von der Mucosa zur Serosa transportiert wurde. Dieser "absolute Transport" jedes Darmsäckchens wurde als Verhältnis der Molarität der Stammlösung (2,5 m mol Ca bzw. 1,2 m mol P) mal Radioaktivität des serösen Mediums zu der Radioaktivität der Stammlösung (= Standard) berechnet. Eine Volumenänderung des serösen Mediums während der Inkubation wurde aus der Gewichtsdifferenz des Darmsäckchens vor und nach der Inkubation bestimmt. Unter Berücksichtigung der Verdünnung und Volumenänderung des serösen Mediums wurde der relative Transport bezogen auf das Darmtrockengewicht errechnet.

Die Berechnung erfolgte für den Phosphattransport nach der Formel:

$$\left[\left(\frac{0{,}3\ \mu\text{ mol P} \times \text{Radioaktivität seröses Medium}}{\text{Radioaktivität der } {}^{32}\text{P-Stammlösung}}\right) \times \frac{\text{ml seröses Medium}}{0{,}25\text{ ml}}\right] : \frac{\text{g Darmtrockengewicht}}{30\text{ min}} = \mu\text{ mol P/g/min}$$

und entsprechend für den Calciumtransport:

$$\left[\left(\frac{0{,}625\ \mu\text{ mol Ca} \times \text{Radioaktivität seröses Medium}}{\text{Radioaktivität der } {}^{45}\text{Ca-Stammlösung}}\right) \times \frac{\text{ml seröses Medium}}{0{,}25\text{ ml}}\right] : \frac{\text{g Darmtrockengewicht}}{30\text{ min}} = \mu\text{ mol Ca/g/min}$$

### 3.5.2 Berechnung der Calcium- bzw. Phosphataufnahme in die Darmwand

Die Gewebeaufnahme wurde in n mol Ca bzw. P pro Gramm Darmtrockengewicht pro Minute angegeben.

Nachdem von allen Zählergebnissen die Radioaktivität der negativen Kontrolle abgezogen worden war, wurde die "absolute Gewebeaufnahme" des gemessenen Darmstückchens bestimmt, indem seine Radioaktivität in Beziehung zur Molarität des Standards (= $^{32}P$- bzw. $^{45}Ca$-Stammlösung) und deren Radioaktivität gesetzt wurde. Unter Einbezug des Trockengewichtes des Darmstückchens und der Inkubationsdauer erhielt man die Gewebeaufnahme pro Gramm Darmtrockengewicht pro Minute.

Formel für die Errechnung der Calciumaufnahme:

$$\frac{0{,}5\ \mu\text{ mol Ca} \times \text{Radioaktivität des Darmstückchens}}{\text{Radioaktivität der } ^{45}\text{Ca-Stammlösung}} : \frac{\text{mg Darmstückchen trocken}}{30\text{ min}} = \text{n mol Ca/g/min}$$

und entsprechend für die Phosphataufnahme:

$$\frac{0{,}24\ \mu\text{ mol P} \times \text{Radioaktivität des Darmstückchens}}{\text{Radioaktivität der } ^{32}\text{P-Stammlösung}} : \frac{\text{mg Darmstückchen trocken}}{30\text{ min}} = \text{n mol P/g/min}$$

## 3.6 Statistik

Als Versuchsergebnisse wurden die Mittelwerte ($\bar{x}$) der Gruppen mit den zugehörigen Standardabweichungen (s) angegeben.

Bei Versuch I mußte aus den dort angeführten Gründen auf eine weitere statistische Auswertung verzichtet werden. Bei den übrigen Versuchen erfolgte die statistische Auswertung aufgrund des parameterfreien U-Tests (SACHS 1972). Die Irrtumswahrscheinlichkeiten (p) für die Versuche II bis VI sind in Kapitel 8 angegeben (Tabellen 16 - 21).

# 4. VERSUCHSBESCHREIBUNGEN UND ERGEBNISSE

Die Zusammensetzung des Futters der Vorperiode und der Basaldiäten in den Versuchen I bis V geben die Tabellen 2 und 4 an. Über die von Versuch zu Versuch wechselnd eingesetzten Diätvariablen informieren die Tabellen 10 bis 14. Die Herkunft und Verwendungsart ist unter 3.4 beschrieben.

Da Versuch VI in wesentlichen Punkten (Fütterung, Versuchsdauer u. a.) von den ersten Versuchen abweicht, wird er zusammenfassend unter 4.6 geschildert.

## 4.1 Versuch I

### Versuchsbeschreibung

Im ersten Versuch sollte die Wirkung von Vitamin $D_3$ und Goldhafer auf den intestinalen Calcium- und Phosphattransport verglichen werden. Außerdem sollte untersucht werden, ob sich die Aktivität des Goldhafers bei einer Hemmung der 1-Hydroxylase der Niere durch strontiumhaltiges Futter der Vitamin $D_3$- oder der $1,25(OH)_2D_3$-Wirkung ähnlicher verhält. Goldhafer wurde in gemahlener Form und als Ätherextrakt der entsprechenden Menge Goldhafer eingesetzt.

### Ergebnisse

Insgesamt zeigte sich, daß mit nur 5 untersuchten Küken pro Gruppe bei der angewandten Versuchsmethode eine zu geringe Aussagekraft zu erreichen war. Zusätzlich konnte aus technischen Gründen täglich nicht mehr als ein Tier pro Gruppe untersucht werden, so daß zwischen dem ersten und letzten Untersuchungstag eine Woche verging. Die Unterschiede zwischen den Gruppen wurden im Verlaufe der Woche immer

Tabelle 10 Versuch I

| D-Repletion pro Kg Futter | Calciumtransport *) | | | | Phosphattransport *) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 % Ca | | 0,4 % Ca, 1,32 % Sr | | 1 % Ca | | 0,4 % Ca, 1,32 % Sr | |
| | $\bar{x}$ | s | $\bar{x}$ | s | $\bar{x}$ | s | $\bar{x}$ | s |
| D-freie Kontrollgruppe | | | 36 | 10 | | | 27 | 14 |
| 800 I.E. Vitamin $D_3$ | 40 | 19 | 45 | 29 | 40 | 27 | 29 | 14 |
| 10 µg $1,25(OH)_2D_3$ | | | 54 | 23 | | | 48 | 29 |
| 200 g Goldhafer | 26 | 7 | 36 | 19 | 24 | 7 | 32 | 19 |
| Ätherextrakt von 200 g Goldhafer | | | 39 | 16 | | | 32 | 14 |

*) in n mol/g Darmtrockengewicht/min, n = 5 Tiere pro Gruppe

geringer.

Als Ergebnisse sind in der Tabelle 10 - in n mol Calcium bzw. Phosphat pro Gramm Darmtrockengewicht pro Minute - die Mittelwerte ($\bar{x}$) und Standardabweichungen ($\pm s$) angegeben. Auf eine statistische Auswertung mußte aus den oben angegebenen Gründen verzichtet werden.

Vitamin $D_3$ konnte in einer Dosierung von 800 I.E./kg Futter den intestinalen Phosphattransport nicht über den der Kontrolltiere steigern, wenn die 1$\alpha$-Hydroxylase der Niere durch Strontiumfütterung gehemmt war. Ebenso lagen die Transportraten der mit gemahlenem Goldhafer bzw. Ätherextrakt und Strontium gefütterten Tiere nicht über der der Kontrollgruppe. Die Küken, die $1,25(OH)_2D_3$ und Strontium erhielten, vermochten ähnlich den Vitamin $D_3$-repletierten, aber nicht strontiumgehemmten Tieren unter den untersuchten Versuchsbedingungen das meiste Calcium zu transportieren. Phosphat wurde im Verhältnis der einzelnen Gruppen entsprechend dem Calcium transportiert. Die hohe Calciumtransportrate der Vitamin $D_3$- und Strontium-gefütterten Küken wurde durch den unverhältnismäßig hohen Transport eines der Versuchstiere in dieser Gruppe verursacht. Der Mittelwert der anderen 4 Tiere ($32 \pm 9$) fügte sich dem Gesamtbild gut ein.

Wegen der großen Streuung bei den meisten Gruppen und der zu geringen Zahl untersuchter Tiere je Ration ließ sich die Frage nach dem Aktivitätsverhalten des Goldhafers im Vergleich zu Vitamin $D_3$ und $1,25(OH)_2D_3$ nicht beantworten.

## 4.2 Versuch II

### Versuchsbeschreibung

Da sich im ersten Versuch gezeigt hatte, daß die verwendete Tierzahl (5 Küken / Gruppe) nicht aussagekräftig genug war, wurde in diesem Versuch die Zahl der Küken auf 8 pro Ration erhöht. Die Anzahl der Gruppen wurde auf 6 vermindert, so daß die Untersuchungen innerhalb von 3 Tagen durchgeführt werden konnten.

Zwischen dem 5. und 7. Tag der Vorperiode waren 15 der insgesamt 70 Tiere verendet. Bereits im 1. Versuch waren in diesem Abschnitt einige Todesfälle aufgetreten. Als Ursache wurde die Zusammensetzung des Futters angesehen, die eine ziemlich "fettige" Konsistenz bedingte. Das Gefieder der Küken war stark verklebt und die Tiere schienen sich trotz einer Raumtemperatur von 32° C nicht wohl zu fühlen. Die pathologisch-anatomische Untersuchung mehrerer Küken erbrachte keine Hinweise auf eine spezifische Erkrankung oder auf einen Zusammenhang mit der Vitamin D-Depletion.

In diesem Versuch wurde bei allen Gruppen die Sr-Basaldiät eingesetzt. Zur Vitamin D-Repletion wurden pro Kilo Versuchsration wie im ersten Versuch 800 I.E. Vitamin $D_3$, 200 g Goldhafer und der Ätherextrakt von 200 g Goldhafer eingesetzt. Die Wirkung des $1,25(OH)_2D_3$ sollte diesmal in der Dosierung 2,5 µg/Kilo Futter, also einem Viertel der im Versuch I gewählten Dosierung, geprüft werden. In die Fragestellung, ob Goldhafer wie $1,25(OH)_2D_3$ und im Gegensatz zu Vitamin $D_3$ die Hemmung der Hydroxylierung in der Niere durch Strontium überwinden kann, sollte erstmals auch der Rückstand des Ätherextraktes einbezogen werden.

Tabelle 11 Versuch II

| D-Repletion pro Kg Futter | Calciumtransport *) 0,4 % Ca, 1,32 % Sr $\bar{x}$ | s | n | Phosphattransport *) 0,4 % Ca, 1,32 % Sr $\bar{x}$ | s | n |
|---|---|---|---|---|---|---|
| D-freie Kontrollgruppe | 26 | 9 | 8 | 11 | 6 | 8 |
| 800 I.E. Vitamin $D_3$ | 35 | 14 | 7 | 25 | 13 | 8 |
| 2,5 µg $1,25(OH)_2D_3$ | 41 | 11 | 7 | 38 | 15 | 7 |
| 200 g Goldhafer | 46 | 19 | 8 | 25 | 16 | 8 |
| Ätherextrakt von 200 g Goldhafer | 37 | 14 | 8 | 34 | 22 | 8 |
| 200 g Ätherextrakt-Rückstand | 50 | 20 | 8 | 28 | 16 | 7 |

*) in n mol/g Darmtrockengewicht/min

Ergebnisse

Eine Gegenüberstellung der eingesetzten Diäten und der erzielten Transportaktivitäten gibt Tabelle 11.

Die Vitamin $D_3$-Gruppe zeigte im Vergleich zur Kontrollgruppe einen leicht erhöhten Calciumtransport und einen sehr deutlich erhöhten Phosphattransport ($p = 0,006$). Als Ursache wurde eine gewisse Vitamin D-artige Aktivität des verwendeten Grünmehls vermutet. Goldhafer zeigte in allen Aufbereitungsarten (gemahlen, Ätherextrakt und Rückstand dieses Ätherextraktes) einen ähnlich hohen Calcium- und Phosphattransport wie die eingesetzten 2,5 µg $1,25(OH)_2D_3$. Nur der Phosphattransport der Gruppe, die gemahlenen Goldhafer erhalten hatte, lag deutlich unter dem Wert der $1,25(OH)_2D_3$-Gruppe. Der Phosphattransport war auch im Verhältnis zum Calciumtransport dieser Gruppe relativ niedrig und entsprach nur dem der Vitamin $D_3$-Gruppe. Insgesamt waren alle Transportraten der mit den verschiedenen Goldhaferfraktionen gefütterten Tiere untereinander nur wenig verschieden.

## 4.3 Versuch III

### Versuchsbeschreibung

In diesem Versuch wurde zum ersten Mal das abgeänderte Vorperiodenfutter eingesetzt (vgl. Tabelle 2). Daraufhin traten keine Tierverluste mehr auf.

Zusätzlich wurden in diesem und in den folgenden Versuchen den Diäten, die keinen gemahlenen Goldhafer enthielten, eine "Goldhafer-Ersatz"-Mischung statt Luzernegrünmehl eingemischt (siehe Tabelle 5).

Goldhafer wurde in den gleichen Aufbereitungsformen wie im vorhergehenden Versuch, jedoch auch in den Gruppen ohne Strontiumzugabe eingesetzt. Es sollte untersucht werden, ob sich - auf den Calcium- und Phosphattransport bezogen - die Wirkungen des Ätherextraktes und des Ätherextraktrückstandes in etwa mit der Wirkung des gemahlenen Goldhafers vergleichen lassen. Gleichzeitig sollte geprüft werden, welche dieser Fraktionen die Strontiumhemmung in der Niere überwinden kann.

### Ergebnisse

In Tabelle 12 sind die verabreichten Diäten und die gemessenen Transportwerte angegeben.

Die Tiere, die gemahlenen Goldhafer erhalten hatten, zeigten den höchsten Calciumtransport. Der Calciumtransport der Tiere, die Goldhafer und Strontium erhielten, war etwas geringer als bei der nur mit Goldhafer gefütterten Gruppe, lag aber deutlich über der Kontrollgruppe ($p = 0{,}004$).

Tabelle 12 Versuch III

| D-Repletion pro Kg Futter | Calciumtransport | | | | Phosphattransport | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 % Ca | | 0,4 % Ca, 1,32 % Sr | | 1 % Ca | | 0,4 % Ca, 1,32 % Sr | |
| | $\bar{x}$ | s | $\bar{x}$ | s | $\bar{x}$ | s | $\bar{x}$ | s |
| D-freie Kontrollgruppe | | | 27 | 6 | | | 27 | 13 |
| 200 g Goldhafer | 67 | 14 | 54 | 16 | 85 | 29 | 76 | 53 |
| Ätherextrakt von 200 g Goldhafer | 58 | 13 | 27 | 6 | 73 | 37 | 35*) | 15 |
| 200 g Goldhaferäther-extrakt-Rückstand | 35 | 22 | 27 | 10 | 27 | 19 | 46 | 34 |

*) n = 6 Tiere pro Gruppe, alle anderen Gruppen n = 7

Angaben in n mol/g Darmtrockengewicht/min

Der Ätherextrakt stimulierte den Caliumtransport etwas weniger als gemahlener Goldhafer. Die Verabreichung von Strontium hemmte die Wirkung des Ätherextraktes auf den Calciumtransport vollständig.

Der Ätherextraktrückstand konnte weder bei Tieren, deren Vitamin D-Metabolisierung nicht gehemmt war, noch bei mit Strontium gefütterten Tieren den Calciumtransport stimulieren.

Die Goldhaferdiät bewirkte auch beim Phosphattransport die höchste Steigerung. Die Wirkung des gemahlenen Goldhafers war bei den Tieren mit Strontiumfütterung nur undeutlich niedriger als bei der Gruppe ohne Strontiumzusatz ($p = 0,15$).

Ohne Strontiumhemmung erreichte der Ätherextrakt fast die Wirkung des gemahlenen Goldhafers auf den Phosphattransport, mit Strontium konnte der Ätherextrakt den Phosphattransport dagegen nicht stimulieren.

Beim Ätherextraktrückstand waren die Schwankungen innerhalb der Gruppen besonders groß. Ohne Strontium war die Wirkung des Ätherextraktrückstandes auf den Phosphattransport sehr niedrig, mit Strontium vermochte der Rückstand den Phosphattransport etwas zu steigern, doch ist die Differenz zur Kontrollgruppe nicht signifikant ($p > 0,2$).

## 4.4 Versuch IV

### Versuchsbeschreibung

Aus technischen Gründen mußte in diesem Versuch die Vorperiode um 3 Tage verlängert werden.

In diesem Versuch sollte ein Wasserextrakt vom Goldhafer eingesetzt werden und die Wirkung in verschiedenen Konzentrationen (10, 20 und 30 % des Futters) geprüft werden. Außerdem sollte die Aktivität von 1 % Solanum malacoxylon im Futter mit und ohne Strontium und 2,5 µg $1,25(OH)_2D_3$ pro Kilo Futter verglichen werden.

### Ergebnisse

Die verabreichten Diäten und die gemessenen Transportwerte sind in der Tabelle 13 gegenübergestellt.

Beim Goldhaferwasserextrakt war bei allen verwendeten Konzentrationen keine Wirkung auf den Calcium- und Phosphattransport festzustellen. Eine gewisse Ausnahme bildete der Wasserextrakt von 300 g Goldhafer: er steigerte den Phosphattransport, jedoch war in dieser Gruppe der Schwankungsbereich der Werte besonders groß.

$1,25(OH)_2D_3$ verursachte in der eingesetzten Dosierung im Vergleich zu den Gruppen mit Goldhaferwasserextrakt eine sehr deutliche Stimulation des Calcium- und Phosphattransportes.

Solanum malacoxylon steigerte ohne Strontium den Calcium- und Phosphattransport sehr deutlich und in Gegenwart von Strontium sogar noch stärker ($p = 0,009$ für Solanum malacoxylon mit gegenüber ohne Strontium).

Tabelle 13 Versuch IV

| D-Repletion pro Kg Futter | Calciumtransport*) | | | | Phosphattransport*) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 % Ca | | 0,4 % Ca, 1,32 % Sr | | 1 % Ca | | 0,4 % Ca, 1,32 % Sr | |
| | $\bar{x}$ | s | $\bar{x}$ | s | $\bar{x}$ | s | $\bar{x}$ | s |
| D-freie Kontrollgruppe | | | 31 | 13 | | | 31 | 19 |
| 2,5 µg $1,25(OH)_2D_3$ | 55 | 12 | | | 94 | 55 | | |
| Wasserextrakt von 100 g Goldhafer | 33 | 13 | | | 20 | 7 | | |
| Wasserextrakt von 200 g Goldhafer | 35 | 14 | | | 23 | 11 | | |
| Wasserextrakt von 300 g Goldhafer | 36 | 15 | | | 52 | 29 | | |
| 10 g Solanum malacoxylon | 82 | 17 | 117 | 37 | 65 | 14 | 150 | 86 |

*) in n mol/g Darmtrockengewicht/min, n = 7 Tiere pro Gruppe

## 4.5 Versuch V

### Versuchsbeschreibung

In diesem Versuch sollte die Aktivität des Wasserextraktes mit der des Ätherextraktrückstandes des Goldhafers verglichen werden. Solanum malacoxylon sollte diesmal in einer niedrigeren Konzentration in der Diät (0,6 %) untersucht werden.

### Ergebnisse

In Tabelle 14 sind die verabreichten Diäten und die erzielten Transportwerte angegeben.

Der Wasserextrakt zeigte mit und ohne Strontium keine Wirkung auf den Calcium- und Phosphattransport.

Der Ätherextraktrückstand des Goldhafers zeigte ähnliche Calcium- und Phosphattransportwerte wie die Gruppen, die einen Wasserextrakt des Goldhafers erhalten hatten.

Solanum malacoxylon stimulierte im Vergleich zu den anderen Diäten den Calcium- und Phosphattransport sehr deutlich ($p < 0{,}003$). Der Transport von Calcium und Phosphat war hier mit Strontium sogar noch mehr gesteigert als ohne Strontium.

Tabelle 14 Versuch V

| D-Repletion pro Kg Futter | Calciumtransport*) | | | | Phosphattransport*) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 % Ca | | 0,4 % Ca, 1,32 % Sr | | 1 % Ca | | 0.4 % Ca, 1,32 % Sr | |
| | $\bar{x}$ | s | $\bar{x}$ | s | $\bar{x}$ | s | $\bar{x}$ | s |
| D-freie Kontrollgruppe | | | 34 | 11 | | | 37 | 16 |
| Wasserextrakt von 200 g Goldhafer | 33 | 6 | 31 | 8 | 26 | 14 | 36 | 9 |
| 200 g Goldhaferäther-extrakt-Rückstand | 34 | 10 | 38 | 17 | 27 | 14 | 32 | 13 |
| 6 g Solanum malacoxylon | 76 | 20 | 97 | 28 | 94 | 34 | 125 | 51 |

*) in n mol/g Darmtrockengewicht/min, n = 7 Tiere pro Gruppe

## 4.6 Versuch VI

In diesem Versuch sollte der Phosphat- und Calciumtransport und die Darmgewebeaufnahme von Phosphat und Calcium bei Tieren untersucht werden, die eine Soja-haltige Ration oder ein Futter mit hohem Gehalt an SCP erhalten hatten. Weitere Angaben über das Futter sind Kapitel 3.3, über die Haltung der Tiere Kapitel 3.2 zu entnehmen. Die Futterzusammensetzung geben die Tabellen 6 und 9 an.

### Versuchsbeschreibung

Ursprünglich sollte nur eine Ration mit hoher SCP-Konzentration unter keimfreien und konventionellen Bedingungen mit einer Soja-Ration verglichen werden. Nach 2 Wochen wurden jedoch in einem der zwei mit den SCP-gefütterten Tieren besetzten Isolatoren ein Coli-Keim und in dem 2. "SCP-Isolator" ein anhämolytischer Streptokokkus nachgewiesen. Deshalb wurden durch das Austauschen von je 5 Küken beide SCP-Gruppen zu Dibioten gemacht.

Um je eine SCP- und Sojagruppe unter keimfreien und dibiotischen Bedingungen vergleichen zu können, wurde das Versuchsschema geändert und eine Isolatoreinheit der Dibioten auf die Sojaration umgesetzt. Gleichzeitig wurden die - noch keimfreien - Küken in einem der zwei "Soja-Isolatoren" für die SCP-Ration eingeteilt.

In gleicher Weise wurden die konventionell gehaltenen Tiere unterteilt, so daß schließlich die unter Kapitel 3.1 angegebene Verteilung der 8 Gruppen vorlag.

Neben der oben genannten Fragestellung - Vergleich SCP- und Soja-gefütterter Tiere unter keimfreien und konven-

tionellen Bedingungen - sollten nun auch die Auswirkungen des Rationswechsels untersucht werden.

Aus Vorversuchen war bekannt, daß die Tiere sehr unterschiedliche Körpergrößen und Lebendgewichte erzielten, obwohl die Rationen isokalorisch waren. Da die Darmstücke bezüglich Länge und Darmwanddicke anscheinend auch ziemlich differierten, sollte außer der Transportaktivität auch die Calcium- und Phosphataufnahme der Darmwand bestimmt werden. Zusätzlich wurden die Lebendgewichte der Tiere bestimmt.

Ergebnisse

Tabelle 15 gibt die Diäten, die Werte des Darmtransportes und der Gewebeaufnahme und die Lebendmasse der Tiere an.

Bei allen Tieren, die unter keimfreien Bedingungen gehalten wurden, war ein ähnlich hoher Calciumtransport festzustellen. Die Küken, die über die ganze Versuchsdauer (4 Wochen) die SCP-Ration erhalten hatten, schienen eine leicht erhöhte Calciumtransportaktivität gegenüber den nur Soja-gefütterten Tieren zu haben ($p = 0,1$).

Bei den konventionell gehaltenen Tieren wurde bei der nur mit SCP-gefütterten Gruppe der deutlich höchste, bei der nur mit Soja-gefütterten Gruppe der niedrigste Calciumtransport gefunden. Bei den zwei Gruppen, bei denen während des Versuches das Futter gewechselt worden war (Soja / SCP und SCP / Soja) bestand kein Unterschied im Calciumtransport. Dagegen bestanden zwischen der nur in der 2. Hälfte und der vom Schlupf an mit Soja gefütterten Gruppe deutliche Unterschiede ($p = 0,012$). Das Gleiche galt für die SCP / SCP- und Soja / SCP-Gruppen ($p = 0,027$).

Tabelle 15 Versuch VI

| | Calcium*) | | | | Phosphat*) | | | | Lebendmasse**) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Keimfrei / dibiot. | Transport | | Gewebeaufnahme | | Transport | | Gewebeaufnahme | | | |
| | $\bar{x}$ | s | $\bar{x}$ | s | $\bar{x}$ | s | $\bar{x}$ | s | $\bar{x}$ | s |
| Soja / Soja | 40 | 13 | 175 | 103 | 61 | 26 | 440 | 179 | 511 | 54 |
| Soja / SCP | 40 | 10 | 165 | 68 | 32 | 22 | 237 | 119 | 501 | 66 |
| SCP / SCP | 52 | 18 | 175 | 61 | 35 | 19 | 285 | 123 | 393 | 48 |
| SCP / Soja | 45 | 10 | 171 | 77 | 49 | 42 | 494 | 357 | 496 | 53 |
| $\bar{X}$ | 44 | 13 | 172 | 74 | 44 | 30 | 366 | 235 | 477 | 72 |
| konventionell | | | | | | | | | | |
| Soja / Soja | 20 | 5 | 114 | 21 | 30 | 12 | 273 | 145 | 876 | 82 |
| Soja / SCP | 29 | 8 | 130 | 56 | 12 | 3 | 87 | 41 | 655 | 68 |
| SCP / SCP | 44 | 14 | 181 | 71 | 15 | 4 | 154 | 61 | 481 | 120 |
| SCP / Soja | 30 | 7 | 150 | 26 | 28 | 15 | 276 | 160 | 618 | 113 |
| $\bar{X}$ | 31 | 12 | 144 | 52 | 21 | 12 | 197 | 134 | 658 | 171 |

*) Angaben in n mol/g Darmtrockengewicht/min

**) Angaben in Gramm

Der Phosphattransport der keimfrei gehaltenen Tiere war bei der nur mit Soja gefütterten Gruppe am höchsten. Die nur mit SCP gefütterten Tiere hatten wie die Soja / SCP-Gruppe den niedrigsten Phosphattransport. Wie der Calciumtransport, so lag auch der Phosphattransport der SCP / Soja-Gruppe zwischen den Werten der anderen Gruppen, ohne sich von einer dieser Gruppen deutlich zu unterscheiden.

Bei den konventionell gehaltenen Gruppen war die Fütterung der letzten 2 Versuchswochen für die Höhe des Phosphattransportes ausschlaggebend: Die 2 Gruppen, die in dieser Zeit die SCP-Ration erhielten, zeigten den gleichen, niedrigen Transport. Dagegen bewirkte die Soja-Ration einen höheren Phosphattransport. Dieser Effekt war besonders bei der Gruppe deutlich, die über 4 Wochen die Soja-Ration erhalten hatte.

Insgesamt war der Calciumtransport der konventionell gehaltenen Küken niedriger als der der unter keimfreien Bedingungen lebenden Tiere. Eine Ausnahme bildeten die nur mit SCP-gefütterten Küken, deren Transport dem der keimfreien Tiere entsprach.

Entsprechendes, d. h. höherer Transport unter keimfreien Bedingungen, galt auch für das Phosphat. Nur bei der SCP / Soja-Gruppe war zwischen den Haltungsarten in Bezug auf den Phosphattransport kein Unterschied festzustellen ($p = 0,168$).

Die Calciumaufnahme in die Darmwand war bei der nur mit Soja-gefütterten Gruppe unter konventionellen Haltungsbedingungen auffallend niedrig und unterschied sich deshalb zum Teil von den anderen Gruppen. Unter den übrigen Gruppen konnte auch zwischen den verschiedenen Haltungsbedingungen

kein Unterschied in der Gewebeaufnahme von Calcium festgestellt werden.

Die Phosphataufnahme in die Darmwand zeigte bei den keimfrei gehaltenen Küken bei allen Gruppen ähnliche Ergebnisse. Bei konventioneller Haltung war die Gewebeaufnahme der Küken, die zuletzt oder die ganze Versuchszeit mit SCP gefüttert wurden, deutlich niedriger als bei den anderen Gruppen.

Insgesamt war die Gewebeaufnahme von Calcium etwa 4 - 5fach höher als der Calciumtransport. Phosphat wurde sogar etwa 8 - 10 mal mehr von der Darmwand aufgenommen als transportiert.

# 5. DISKUSSION

## 5.1 Ergebnisse der mit Goldhafer und Solanum malacoxylon durchgeführten Versuche

Da im Versuch I noch weniger Tiere pro Gruppe untersucht werden konnten und da die Versuchsperiode für die einzelnen Tiere zusätzlich variierte, können die Ergebnisse dieses Versuches nicht zur Beurteilung der Transportbeeinflussung durch Goldhafer herangezogen werden.

Außerdem waren die Küken in den beiden ersten Versuchen in ihrem Allgemeinbefinden gestört. Im Versuch II verendete ein erheblicher Teil der Tiere. Deshalb wurde ab Versuch III ein geändertes Vorperiodenfutter eingesetzt. Weiter wurde statt Luzernegrünmehl eine "Goldhafer-Ersatz"-Mischung in die Goldhafer-freien Diäten eingemischt. Aus diesen Gründen lassen sich nur die Versuche III bis V untereinander vergleichen und zur Diskussion des Einflusses von Goldhafer auf den Calcium- und Phosphattransport heranziehen.

Diese Versuche zeigten, daß gemahlener Goldhafer eine sehr deutliche Steigerung des Calcium- und Phosphattransportes auslöst und damit eine Vitamin D-artige Wirkung auf die Darmresorption besitzt.

Wurde die Vitamin D-Metabolisierung durch Strontium gehemmt, so waren die Transportraten für Calcium und Phosphat etwas niedriger als bei der Verabreichung von Goldhafer an nicht durch Strontium gehemmte Tiere. Goldhafer kann also entweder die Hemmung der Metabolisierung durch Strontium nur zum Teil überwinden oder er enthält zwei Wirkungskomponenten, von denen die eine hemmbar ist und die andere nicht.

Die Wirkung des Ätherextraktes von Goldhafer auf den Calcium- und Phosphattransport von Tieren, deren Vitamin D-Metabolisierung nicht durch Strontium gehemmt war, war nur wenig niedriger als die von gemahlenem Goldhafer. Damit ist also eine Vitamin D-wirksame Komponente im Ätherextrakt enthalten. Doch wird diese Aktivität im Goldhaferätherextrakt vollständig durch Strontium gehemmt. Dieses Ergebnis stimmt mit den Befunden überein, die im Goldhaferätherextrakt Vitamin $D_3$ und einen Vitamin $D_3$-Ester fanden, deren Wirkung durch Strontium gehemmt werden kann.

Die Vermutung, der nicht hemmbare Anteil der Goldhaferwirkung sei im Rückstand des Ätherextraktes enthalten, konnte mit diesen Transportuntersuchungen am Darm nicht bestätigt werden. Die Wirkung des Ätherextraktrückstandes auf den Calcium- und Phosphattransport entsprach mit und ohne Strontiumzusatz des Futters nur der Vitamin D-freien Kontrollgruppe.

Die Vermutung, daß ähnlich wie in Solanum malacoxylon im Wasserextrakt eine metabolitartige Vitamin $D_3$-Verbindung vorliege, bestätigte sich für Goldhafer nicht. Die wässrigen Extrakte unterschiedlicher Mengen Goldhafers zeigten keine Wirkung auf den Calcium- und Phosphattransport.

Erst bei der höchsten Konzentration, einem Wasserextrakt entsprechend 300 g Goldhafer pro Kilo Futter, war eine leichte Erhöhung des Phosphattransportes festzustellen. Diese Feststellung wird jedoch mit Vorbehalt gemacht: wie aus der hohen Standardabweichung zu sehen ist, waren die Transportwerte der Einzeltiere in dieser Gruppe sehr unterschiedlich. Dies würde bedeuten, daß, falls im Wasserextrakt des Goldhafers eine metabolitartig wirkende Komponente enthalten ist, diese wahrscheinlich in sehr geringer Konzentration vorliegt.

Damit war zwar eine - in ihrer Wirkung auf den Calcium- und Phosphattransport - durch Strontium nicht hemmbare Komponente des Goldhafers festgestellt worden, es gelang jedoch nicht, diese nicht hemmbare Wirkung einer der Fraktionen (Ätherextrakt, Ätherextraktrückstand, Wasserextrakt) des Goldhafers zuzuordnen. Weder im Ätherextraktrückstand noch im Wasserextrakt des Goldhafers war in Gegenwart von Strontium eine Aktivität nachweisbar.

Möglicherweise ist die metabolitartige Substanz so labil, daß sie durch das Extraktionsverfahren zerstört wird. Nach WASSERMAN et al. (1977) könnte der $1,25(OH)_2D_3$-artige Gehalt in einem sehr geringen Verhältnis zum gesamten Vitamin D-Gehalt der Pflanze vorhanden sein. Wegen der möglicherweise zu geringen Empfindlichkeit der angewandten Methode kann ein solcher niedriger Gehalt an einer $1,25(OH)_2D_3$-ähnlichen Substanz nicht ausgeschlossen werden.

Die höchsten Calcium- und Phosphattransportwerte wurden bei den mit Solanum malacoxylon gefütterten Gruppen festgestellt. Ähnlich hoch lagen die Transportwerte der mit $1,25(OH)_2D_3$-repletierten Tiere. Bei Solanum malacoxylon wurden die Transportwerte durch die Verabreichung von Strontium nicht erniedrigt, vielmehr zeigte Solanum malacoxylon, mit Strontium gefüttert, höhere Transportraten. Eine Erklärung für diesen interessanten Befund kann nicht gegeben werden.

## 5.2 Ergebnisse des mit bakteriellem Einzellerprotein durchgeführten Versuches

Zwischen den verschiedenen Gruppen der keimfrei gehaltenen Tiere bestand kaum ein Unterschied im Calciumtransport. Dagegen zeigten sich bei den konventionell gehaltenen Tieren deutliche Unterschiede. Hier wies die Gruppe, die seit dem Schlupf die SCP-Ration erhielt, auffallend hohe Calciumtransportwerte auf. Dies steht im Gegensatz zu der bei den Tieren beobachteten Rachitis. Jene Tiere, die 4 Wochen mit der Soja-Ration gefüttert wurden, entsprechen am ehesten physiologischen Ernährungs- und Haltungsbedingungen. Sie hatten den niedrigsten Calciumtransport aller Gruppen.

Das Wechseln der Fütterung von Soja auf SCP und umgekehrt hatte, unabhängig von der Haltungsart der Tiere, auf den Calciumtransport keinen Einfluß. Gleiche Rationen bewirkten unter keimfreien Bedingungen einen höheren Calciumtransport.

Der Phosphattransport war bei Tieren, die seit dem Schlupf oder nur in der 2. Versuchshälfte mit Soja gefüttert wurden, signifikant höher als bei den anderen Gruppen. Der Phosphattransport der SCP-Gruppen war auffallend niedrig. So besteht, zumindest vom Phosphattransport der Tiere her gesehen, der Verdacht, daß bei Verabreichung von hohen Konzentrationen SCP tatsächlich eine Form von Rachitis entsteht, die auch durch hohe Gaben von Vitamin $D_3$ im Futter nicht verhütet werden kann.

Der Phosphattransport der keimfreien Tiere war bei allen Gruppen etwa doppelt so hoch wie der der konventionell gehaltenen Tiere. Mit eine Ursache dafür könnte die

geringere Ausbildung der Mucosa- und Muscularisschicht bei keimfrei gehaltenen Tieren sein, so daß bei diesen Tieren in der gleichen Zeit mehr Calcium und Phosphat von der Mucosa zur Serosa transportiert werden konnte.

Die Gewebeaufnahme stand in einem direkten Verhältnis zum Transport von Calcium und Phosphat: vom Calcium wurde etwa die 4 - 5fache Menge, die transportiert wurde, vom Gewebe aufgenommen, vom Phosphat sogar etwa der 8 - 10-fache Betrag. Dagegen konnte zwischen dem Calcium- und Phosphattransport der untersuchten Gruppen keine Korrelation festgestellt werden.

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

In 5 Versuchen wurde die Wirkung von Goldhafer in verschiedenen Aufbereitungsformen (gemahlen, Ätherextrakt, Ätherextraktrückstand, Wasserextrakt), von Solanum malacoxylon, Vitamin $D_3$ und 1,25-Dihydroxyvitamin $D_3$ auf den intestinalen Calcium- und Phosphattransport rachitischer Hühnerküken untersucht.

Goldhafer verursachte eine Steigerung des Calcium- und Phosphattransportes, wobei Goldhaferätherextrakt eine etwas geringere Wirkung als Goldhafer hatte.

In Gegenwart von Strontium wurde das im Ätherextrakt enthaltene Vitamin $D_3$ in seiner Wirkung auf den Darmtransport vollständig gehemmt. Dagegen hatte Goldhafer selbst eine Wirkung auf den Calcium- und Phosphattransport, die durch Strontium nicht gehemmt wurde. Dieser Befund spricht für das Vorliegen einer metabolitartigen Komponente neben Cholecalciferol, die ätherunlöslich ist.

Es gelang jedoch nicht, diese durch Strontium nicht hemmbare Wirkung des Goldhafers dem Ätherextraktrückstand oder dem Wasserextrakt zuzuordnen. Entweder ist diese metabolitartige Substanz in nur sehr geringer Konzentration vorhanden und deshalb mit der verwendeten Untersuchungsmethode nicht nachweisbar. Oder diese Substanz ist so labil, daß sie durch das Extraktionsverfahren zerstört wird.

1,25-Dihydroxyvitamin $D_3$ bewirkte wie Solanum malacoxylon eine sehr deutliche Stimulation des Calcium- und Phosphattransportes. Solanum malacoxylon zeigte sogar, zusammen mit Strontium verabreicht, höhere Transportraten.

Bei keimfreien Küken war der Calcium- und Phosphattransport gegenüber konventionell gehaltenen Tieren signifikant erhöht. Hohe Konzentrationen eines bakteriellen "Einzellerproteins" anstelle von Sojaprotein in der Diät bewirkten sowohl bei konventionell wie auch bei keimfrei gehaltenen Küken ein deutliches Absinken des Phosphattransportes. Dies ist möglicherweise die Ursache der durch hohe Einzellerprotein-Konzentrationen ausgelösten Rachitis, die auch durch hohe Dosen Vitamin $D_3$ im Futter nicht verhütet werden kann.

## 7. SUMMARY

(Influence of Trisetum flavescens, Solanum malacoxylon and a Single Cell Protein on intestinal transport of calcium and phosphate in chicks.)

Effects of T. flavescens, fractions of T. flavescens, S. malacoxylon, vitamin $D_3$ and $1,25(OH)_2D_3$ on intestinal transport of calcium and phosphate were studied in young broiler chickens.

T. flavescens increased the rate of Ca and P transport. An ether extract of T. flavescens had similar but somewhat smaller effects.

In the presence of dietary strontium, the cholecalciferol contained in the ether extract of T. flavescens had no effects. Intact T. flavescens, however, did overcome the strontium inhibition. This finding indicates a metabolite-like component in T. flavescens besides cholecalciferol, which appears to be unsoluble in diethylether.

This principle which can overcome strontium inhibition could not be attributed to either the aqueous extract or the ether extract residue.

This substance may be present in only very minute concentration or may be labile under the extraction procedure.

$1,25(OH)_2D_3$ as well as S. malacoxylon did lead to a pronounced stimulation of Ca and P transport. Unexpectedly the stimulation of transport induced by S. malacoxylon

did show further increases when strontium was present.

In germfree chicks Ca and P transport rate was significantly higher compaired to conventional chicks on the same diet.

High dietary levels of a bacterial Single Cell Protein instead of soy protein caused a significant decrease in phosphate transport. This effect of SCP was very similar in conventional and germfree chicks. This may possibly explain the rickets observed in chicks receiving high levels of this SCP, a condition which is not prevented by high levels of vitamin $D_3$.

## 8. ANHANG: Tabellen der Irrtumswahrscheinlichkeiten (p)

Abkürzungen Versuche II bis V:

$D_3$ = Vitamin $D_3$
1,25 = 1,25-Dihydroxyvitamin $D_3$
GH = Goldhafer
GH-ÄE = Goldhaferätherextrakt
GH-ÄER = Goldhaferätherextraktrückstand
GH-WE = Goldhaferwasserextrakt
S.m. = Solanum malacoxylon
Sr = Strontium

Tabelle 16 Versuch II

Irrtumswahrscheinlichkeiten (p)
Calcium- und Phosphattransport

| Ca \ P | Kontr. | $D_3$ | 1,25 | GH | GH-ÄE | GH-ÄER |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kontrolle | | 0,006 | 0,001 | 0,023 | 0,003 | 0,019 |
| 800 I.E. $D_3$ | 0,102 | | 0,041 | 0,417 | 0,200 | 0,322 |
| 2,5 µg 1,25 | 0,005 | 0,283 | | 0,053 | 0,149 | 0,090 |
| GH | 0,014 | 0,102 | 0,209 | | 0,124 | 0,322 |
| GH-ÄE | 0,029 | 0,454 | 0,177 | 0,104 | | 0,408 |
| GH-ÄER | 0,004 | 0,124 | 0,244 | 0,458 | 0,104 | |

alle Gruppen mit Strontiumzusatz

Tabelle 17 Versuch III

Irrtumswahrscheinlichkeiten (p)

Calcium- und Phosphattransport

| Ca \ P | Kontr.+Sr | Goldhafer | Goldh.+Sr | GH-ÄE | GH-ÄE+Sr | GH-ÄER | GH-ÄER+Sr |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Kontrolle+Sr | | 0,001 | 0,009 | 0,013 | 0,090 | 0,475 | 0,203 |
| Goldhafer | 0,001 | | 0,153 | 0,327 | 0,018 | 0,001 | 0,024 |
| Goldh.+Sr | 0,004 | 0,032 | | 0,424 | 0,112 | 0,009 | 0,090 |
| GH-ÄE | 0,001 | 0,112 | 0,375 | | 0,139 | 0,013 | 0,071 |
| GH-ÄE+Sr | 0,424 | 0,001 | 0,004 | 0,001 | | 0,055 | 0,375 |
| GH-ÄER | 0,283 | 0,013 | 0,042 | 0,013 | 0,241 | | 0,169 |
| GH-ÄER+Sr | 0,375 | 0,001 | 0,006 | 0,001 | 0,283 | 0,139 | |

Tabelle 18 Versuch IV

Irrtumswahrscheinlichkeiten (p)

Calcium- und Phosphattransport

| P / Ca | Kontr.+Sr | 1,25 | GH-WE 10 % | GH-WE 20 % | GH-WE 30 % | S.m. 1 % | S.m. 1 % +Sr |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Kontr.+Sr | | 0,006 | 0,139 | 0,169 | 0,042 | 0,006 | 0,001 |
| 2,5 µg 1,25 | 0,004 | | 0,001 | 0,001 | 0,055 | 0,283 | 0,112 |
| GH-WE 10 % | 0,327 | 0,018 | | 0,283 | 0,003 | 0,001 | 0,001 |
| GH-WE 20 % | 0,375 | 0,008 | 0,475 | | 0,013 | 0,001 | 0,001 |
| GH-WE 30 % | 0,327 | 0,006 | 0,327 | 0,424 | | 0,203 | 0,006 |
| S.m. 1 % | 0,001 | 0,004 | 0,001 | 0,001 | 0,001 | | 0,009 |
| S.m. 1 % +Sr | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,009 | |

Tabelle 19 Versuch V

Irrtumswahrscheinlichkeiten (p)

Calcium- und Phosphattransport

| Ca \ P | Kontr.+Sr | GH-WE | GH-WE+Sr | GH-ÄER | GH-ÄER+Sr | S.m. 0,6 % | S.m. 0,6 % +Sr |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Kontr. +Sr | | 0,055 | 0,241 | 0,112 | 0,203 | 0,002 | 0,001 |
| GH-WE | 0,424 | | 0,055 | 0,327 | 0,185 | 0,001 | 0,001 |
| GH-WE+Sr | 0,327 | 0,125 | | 0,055 | 0,203 | 0,001 | 0,001 |
| GH-ÄER | 0,327 | 0,327 | 0,375 | | 0,203 | 0,001 | 0,001 |
| GH-ÄER+Sr | 0,375 | 0,424 | 0,241 | 0,424 | | 0,001 | 0,001 |
| S.m. 0,6 % | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,003 | | 0,090 |
| S.m. 0,6 % +Sr | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,062 | |

Tabelle 20 Versuch VI

Irrtumswahrscheinlichkeiten (p)

Calcium- und Phosphattransport

| Ca \ P | keimfrei | | | | konventionell | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| keimfrei | Soja/Soja | Soja/SCP | SCP/SCP | SCP/Soja | Soja/Soja | Soja/SCP | SCP/SCP | SCP/Soja |
| Soja / Soja | | 0,022 | 0,027 | 0,168 | 0,012 | 0,002 | 0,002 | 0,019 |
| Soja / SCP | 0,500 | | 0,324 | 0,181 | 0,181 | 0,022 | 0,072 | 0,428 |
| SCP / SCP | 0,100 | 0,137 | | 0,374 | 0,436 | 0,012 | 0,019 | 0,261 |
| SCP / Soja | 0,212 | 0,292 | 0,374 | | 0,315 | 0,008 | 0,019 | 0,168 |
| konventionell | | | | | | | | |
| Soja / Soja | 0,003 | 0,003 | 0,002 | 0,002 | | 0,019 | 0,027 | 0,374 |
| Soja / SCP | 0,075 | 0,034 | 0,005 | 0,012 | 0,019 | | 0,055 | 0,027 |
| SCP / SCP | 0,374 | 0,358 | 0,261 | 0,261 | 0,002 | 0,027 | | 0,075 |
| SCP / Soja | 0,075 | 0,034 | 0,005 | 0,019 | 0,012 | 0,374 | 0,015 | |

Tabelle 21 Versuch VI

Irrtumswahrscheinlichkeiten (p)

Calcium- und Phosphataufnahme der Darmwand

| Ca / P | keimfrei | | | | konventionell | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| keimfrei | Soja/Soja | Soja/SCP | SCP/SCP | SCP/Soja | Soja/Soja | Soja/SCP | SCP/SCP | SCP/Soja |
| Soja / Soja | | 0,022 | 0,075 | 0,436 | 0,055 | 0,002 | 0,003 | 0,075 |
| Soja / SCP | 0,500 | | 0,137 | 0,072 | 0,292 | 0,009 | 0,181 | 0,292 |
| SCP / SCP | 0,374 | 0,292 | | 0,168 | 0,374 | 0,003 | 0,019 | 0,500 |
| SCP / Soja | 0,315 | 0,500 | 0,374 | | 0,131 | 0,003 | 0,012 | 0,168 |
| konventionell | | | | | | | | |
| Soja / Soja | 0,261 | 0,072 | 0,100 | 0,027 | | 0,008 | 0,075 | 0,436 |
| Soja / SCP | 0,315 | 0,181 | 0,168 | 0,131 | 0,436 | | 0,027 | 0,027 |
| SCP / SCP | 0,436 | 0,358 | 0,436 | 0,374 | 0,100 | 0,100 | | 0,075 |
| SCP / Soja | 0,436 | 0,428 | 0,212 | 0,405 | 0,012 | 0,168 | 0,212 | |

## 9. LITERATURVERZEICHNIS


Armbrecht, H. J. and R. H. Wasserman (1976)
Enhancement of $Ca^{++}$ uptake by lactose in the rat small intestine.
J. Nutr. 106, 1265 - 1271

Armbrecht, H. J., T. V. Zenser, M. E. H. Bruns, B. B. Davis (1979)
Effect of age on intestinal calcium absorption and adaptation to dietary calcium.
Am. J. Physiol. 236, E 769 - 774

Baxter, L. A., H. P. De Luca, J.-P. Bonjour, H. Fleisch (1974)
Inhibition of vitamin D metabolism by ethane-1-hydroxy-1,1-diphosphonate.
Arch. Biochem. Biophys. 164, 665 - 672

Chang, Y.-O. and D. M. Hegsted (1964)
Lactose and calcium transport in gut sacs.
J. Nutr. 82, 297 - 300

Chen, T. C., L. Castillo, M. Korycka-Dahl, H. F. De Luca (1974)
Role of vitamin D metabolites in phosphate transport of rat intestine.
J. Nutr. 104, 1056 - 1060

Coates, M. E. and E. S. Holdsworth (1961)
Vitamin $D_3$ and absorption of calcium in the chick.
Br. J. Nutr. 15, 131 - 147

Corradino, R. A. (1973)
Embryonic chick intestine in organe culture. A unique system for the study of the intestinal calcium absorptive mechanism.
J. Cell. Biol. 58, 64 - 78

Danisi, G., J.-P. Bonjour, R. W. Straub (1980)
Regulation of Na-dependent phosphate influx across the mucosal border of duodenum by 1,25-dihydroxycholecalciferol.
Pflügers Arch. 388, 227 - 232

De Luca, H. F. (1979)
The vitamin D system in the regulation of calcium and phosphorus metabolism.
Nutr. Reviews 37, 161 - 193

Dirksen, G., P. Plank, T. Hänichen, A. Spiess (1972)
Über eine enzootische Kalzinose beim Rind.
V. Experimentelle Untersuchungen an Kaninchen mit selektiver Verfütterung von Knaulgras (Dactylis glomerata), Goldhafer (Trisetum flavescens) und einem Gräsergemisch.
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 79, 77 - 79

Dirksen, G., P. Plank, U. Simon, T. Hänichen, P. Daniel, A. Spiess (1974)
Über eine enzootische Kalzinose beim Rind.
VII. Nachweis der kalzinogenen Wirkung von Goldhafer (Trisetum flavescens L.P.B.) beim Wiederkäuer.
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 81, 1 - 5

Dirksen, G., U. Simon, T. Hänichen (1979)
Trisetum calcinosis: Current status of clinical research.
In: Vitamin D-Basic research and its clinical application. Eds.: A. W. Norman, K. Schäfer, D. v. Herrath, H.-G. Grigoleit, J. W. Coburn, H. F. De Luca, E. Mawer, T. Suda
Walter de Gruyter, Berlin / New York, 1979
pp 921 - 924

Döbereiner, J., S. H. Done, L. E. Beltran (1975)
Experimental Solanum malacoxylon poisoning in calves.
Brit. vet. J. 131, 175 - 185

Freedman, R. A., M. W. Weiser, K. J. Isselbacher (1977)
Calcium translocation by Golgi and lateral-basal membran vesicles from rat intestine: Decrease in vitamin D deficient rats.
Proc. Nat. Acad. Sci. 74, 3612 - 3616

Fuchs, R. and M. Peterlik (1980)
Vitamin D-induced phosphate transport in intestinal brush border membrane vesicles.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 93, 87 - 92

Garabedian, M., M. F. Holick, H. F. De Luca, I. T. Boyle (1972)
Control of 25-hydroxycholecalciferol metabolism by parathyroid glands.
Proc. Nat. Acad. Sci. 69, 1673 - 1676

Gropp, J., K. König, E. Stadler (1981)
Nebenwirkungen bei der Prüfung hoch SCP-haltiger Diäten an Geflügel.
2. Symposium Mikrobielle Proteingewinnung und Biotechnologie, Braunschweig-Stöckheim
2./3. Oktober 1980, im Druck

Halloran, B. P. and H. F. De Luca (1980)
Calcium transport in small intestine during early development: Role of vitamin D.
Am. J. Physiol. 239, G473 - 479

Harmeyer, J. and H. F. De Luca (1969)
Calcium-binding protein and calcium absorption after vitamin D administration.
Arch. Biochem. Biophys. 133, 247 - 254

Harrison, H. E. and H. C. Harrison (1961)
Intestinal transport of phosphate: action of vitamin D, calcium and potassium.
Am. J. Physiol. 201, 1007 - 1012

Haussler, M. R., J. E. Zerwekh, J. E. Helle, R. H. Rizzardo, M. M. Pechet (1973)
Biological activity of 1-hydrocacholecalciferol, a synthetic analog of the hormonal form of vitamin $D_3$.
Proc. Nat. Acad. Sci. 70, 2248 - 2252

Henry, H. L., A. W. Norman, A. N. Taylor, D. L. Hartenbower, J. W. Coburn (1976)
Biological activity of 24,25-dihydroxycholecalciferol in chicks and rats.
J. Nutr. 106, 724 - 734

Hibberd, K. A. and A. W. Norman (1969)
Comperative biological effects of vitamins $D_2$ and $D_3$ and dihydrotachysterol $D_2$ and dihydrotachysterol $D_3$ in the chick.
Biochem. Pharmacol. 18, 2347 - 2355

Humphreys, D. J. (1973)
Studies on the active principle of Solanum malacoxylon.
Nature. New Biology 246, 155 - 157

Kallfelz, F. A., A. N. Taylor, R. H. Wasserman (1967)
Vitamin D-induced calcium-binding factor in rat intestinal mucosa.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 125, 54 - 58

Köhler, H., D.-S. Regal, M. Peterlik (1978)
Zur Kalzinose der Rinder in Österreich.
VI. Nachweis einer 1,25-artigen Substanz als Ursache der antirachitischen Wirkung von Goldhafer (Trisetum flavescens) bei Küken und Wachteln.
Zbl. Vet. Med. A25, 253 - 270

Kowarski, S. and D. Schachter (1980)
Intestinal membrane calcium-binding protein. Vitamin D-dependent membrane component of the intestinal calcium transport mechanism.
J. Biol. Chem. 255, 10834 - 10840

Kowarski, S. and D. Schachter (1975)
Vitamin D-dependent, particulate calcium-binding activity and intestinal calcium transport.
Am. J. Physiol. 229, 1198 - 1204

Kowarski, S. and D. Schachter (1969)
Effects of vitamin D on phosphate transport and incorporation into mucosal constituents of rat intestinal mucosa.
J. Biol. Chem. 244, 211 - 217

Krook, L., R. H. Wasserman, J. N. Shively, A. H. Tashjian, T. D. Brokken, J. M. Morton (1975 a)
Hypercalcemia and calcinosis in Florida horses: Implication of the shrub, Cestrum diurnum, as the causative agent.
Cornell Vet. 65, 26 - 56

Krook, L., R. H. Wasserman, K. McEntree, T. D. Brokken, M. B. Teigland (1975 b)
Cestrum diurnum poisoning in Florida cattle.
Cornell Vet. 65, 557 - 575

Libiseller, R., E. Glawischnig, H. Köhler, R. Swoboda (1974)
Zur Kalzinose der Rinder in Österreich.
II. Experimentelle Auslösung einer Kalzinose bei Schafen und Kaninchen.
Zbl. Vet. Med. A21, 705 - 730

MacLaughlin, J. A., M. M. Weiser, R. A. Freedman (1980)
Biphasic recovery of vitamin D-dependent $Ca^{2+}$ uptake by rat intestinal Golgi membranes.
Gastroenterology 78, 325 - 332

Martin, D. L. and H. F. De Luca (1969 a)
Calcium transport and the role of vitamin D.
Arch. Biochem. Biophys. 134, 139 - 148

Martin, D. L. and H. F. De Luca (1969 b)
Influence of sodium on calcium transport by the rat small intestine.
Am. J. Physiol. 216, 1351 - 1359

Melancon, M. J. and H. F. De Luca (1970)
Vitamin D stimulation of calcium-dependent adenosine triphosphate in chick intestinal brush borders.
Biochemistry 9, 1658 - 1664

Myrtle, J. F. and A. W. Wasserman (1971)
Vitamin D: A cholecalciferol metabolite highly active in promoting intestinal calcium transport.
Science 171, 79 - 82

Nicolaysen, K. (1937)
Studies upon the mode of action of vitamin D. III. The influence of vitamin D on absorption of calcium and phosphorus.
Biochem. J. 31, 122 - 129

Norman, A. W. (1979)
Vitamin D metabolism and calcium absorption.
Am. J. Med. 67, 989 - 998

Norman, A. W., A. K. Mircheff, T. H. Adams, A. Spielvogel (1970)
Studies on the mechanisms of action of calciferol. III. Vitamin D-mediated increase of intestinal brush border alkaline phosphatase activity.
Biochem. Biophys. Acta 215, 348 - 354

Norman, A. W., M. N. Mitra, W. H. Okamura, R. M. Wing (1975)
Vitamin D: 3-deoxy-1α-hydroxyvitamin $D_3$, biologically active analog of 1α,25-dihydroxyvitamin $D_3$.
Science 188, 1013 - 1015

Omdahl, J. L. and H. F. De Luca (1973)
Regulation of vitamin D metabolism and function.
Physiol. Reviews 53, 327 - 372

Omdahl, J. L. and H. F. De Luca (1972)
Rachitogenic activity of dietary strontium. I. Inhibition of intestinal calcium absorption and 1,25-dihydroxycholecalciferol synthesis.
J. Biol. Chem. 247, 5520 - 5526

Peterlik, M. (1978)
Phosphate transport by embryonic chick duodenum: Stimulation by vitamin $D_3$.
Biochem. Biophys. Acta 514, 164 - 171

Peterlik, M., K. Bursac, M. R. Haussler, M. R. Hughes, R. H. Wasserman (1976)
Further evidence for the 1,25-dihydroxyvitamin D-like activity of Solanum malacoxylon.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 87, 743 - 749

Peterlik, M., D.-S. Regal, H. Köhler (1977)
Eine 1,25-Dihydroxyvitamin D-artige Substanz als Ursache der kalzinogenen Wirkung des Goldhafers (Trisetum flavescens).
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 84, 253 - 255

Peterlik, M., D.-S. Regal, H. Köhler (1977 a)
Evidence for a 1,25-dihydroxyvitamin $D_3$-like activity in Trisetum flavescens: Possible cause for calcinosis in grazing animals.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 77, 775 - 781

Peterlik, M. and R. H. Wasserman (1978 a)
Effect of vitamin D on transepithelial phosphate transport in chick intestine.
Am. J. Physiol. 234, E 379 - 388

Peterlik, M. and R. H. Wasserman (1978 b)
Stimulatory effect of 1,25-dihydroxycholecalciferol-like substance from Solanum malacoxylon and Cestrum diurnum on phosphate transport in chick jejunum.
J. Nutr. 108, 1673 - 1679

Peterlik, M. and R. H. Wasserman (1977)
Effect of vitamin $D_3$ and 1,25-dihydroxyvitamin $D_3$ on intestinal transport of phosphate.
In: Phosphate metabolism.
Eds: S. G. Massry and E. Ritz
New York / London, Plenum Press 1977, pp 323 - 332

Peterlik, M. and R. H. Wasserman (1975)
1,25-dihydroxycholecalciferol-like activity in Solanum malacoxylon: Purification and partial characterization.
FEBS-Letters 56, 16 - 19

Rambeck, W. A., W. Oesterhelt, M. Vecchi, H. Zucker (1979 a)
Occurrence of cholecalciferol in the calcinogenic plant Trisetum flavescens.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 87, 743 - 749

Rambeck, W. A., A. Wetzel, O. Kreutzberg, H. Zucker (1979 b)
Distribution and activity of a vitamin $D_3$ compound in Trisetum flavescens.
In: Vitamin D - Basic research and its clinical application.
Eds: A. W. Norman, K. Schäfer, D. v. Herrath, H.-G. Grigoleit, J. W. Coburn, J. F. De Luca, E. Mawer, T. Suda
Walter de Gruyter, Berlin / New York, 1979, pp 33 - 36

Rambeck, W. A., A. Wetzel, H. Stark (1979 c)
Distribution and activity of a vitamin $D_3$ compound in Trisetum flavescens.
Fourth Workshop on Vitamin D, Berlin, Febr. 1979. Abstracts, p. 6

Rambeck, W. A. and H. Zucker (1978)
Non-identity of the steroid from Trisetum flavescens with $1,25(OH)_2D_3$.
Third International Workshop on Calcified Tissues, Israel, March 1978, Abstracts, p. 57

Rasmussen, H., O. Fontaine, E. E. Max, D. B. P. Goodman (1979)
The effect of 1α-hydroxyvitamin $D_3$ administration on calcium transport in the chick intestinal brush border membran vesicles.
J. Biol. Chem. 254, 2993 - 2999

Rizzoli, R., H. Fleisch, J.-P- Bonjour (1977)
Role of 1,25-dihydroxyvitamin $D_3$ on intestinal phosphate absorption in rats with a normal vitamin D supply.
J. Clin. Invest. 60, 639 - 647

Sachs, L. (1972)
Statistische Auswertungsmethoden
Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 3. Aufl.

Spencer, R., M. Charman, P. W. Wilson, D. E. Lawson (1978)
The relationship between vitamin D-stimulated calcium transport and intestinal calcium-binding protein in the chicken.
Biochem. J. 170, 93 - 101

Ston, J., H. Wilczek, V. Pacovsky (1978)
Effect of Trisetum flavescens on calcium and phosphorus metabolism. Mechanism of action studied through its interaction with diphosphonate.
Physiol. Bohemoslov. 27, 515 - 520

Tanaka, Y. and H. F. De Luca (1973)
The control of 25-hydroxyvitamin D metabolism by inorganic phosphorus.
Arch. Biochem. 154, 566 - 574

Taylor, A. N. (1974)
In vitro phosphate transport in chick ileum: Effect of cholecalciferol, calcium, sodium and metabolic inhibitors.
J. Nutr. 104, 489 - 494

Ussing, H. H. and H. Zehran (1951)
Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin.
Acta Physiol. Scand. 23, 110 - 127

Walling, M. W. and D. V. Kimberg (1975 a)
Effects of 1α,25-dihydroxyvitamin $D_3$ and Solanum glaucophyllum on intestinal calcium and phosphate transport and on plasma Ca, Mg, and P levels in the rat.
Endocrinol. 97, 1567 - 1576

Walling, M. W. and D. V. Kimberg (1975 b)
Calcium absorption by intestine. Stimulation in vitamin D-deficient nephrectomized rats by Solanum glaucophyllum.
Gastroent. 69, 200 - 205

Walling, M. W. and D. V. Kimberg (1973)
Active secretion of calcium by adult rat ileum and jejunum in vitro.
Am. J. Physiol. 225, 415 - 422

Walling, M. W. and S. S. Rothman (1969)
Phosphate-independent, carrier-mediated active transport of calcium by rat intestine.
Am. J. Physiol. 217, 1144 - 1148

Wasserman, R. H. (1978)
The nature and mechanism of action of the calcinogenic principle of Solanum malacoxylon and Cestrum diurnum, and a comment on Trisetum flavescens.
In: R. F. Keeler: Effects of poisonous plants on livestock.
Academic Press New York, 1978, pp 545 - 553

Wasserman, R. H., R. A. Corradino, L. Krook, M. R. Hughes, M. R. Haussler (1976)
Studies on the 1$\alpha$,25-dihydroxycholecalciferol-like activity in a calcinogenic plant, Cestrum diurnum, in the chick.
J. Nutr. 106, 457 - 465

Wasserman, R. H., R. A. Corradino, A. N. Taylor (1968)
Vitamin D-dependent calcium binding protein: Purification and some properties.
J. Biol. Chem. 243, 3978 - 3985

Wasserman, R. H., L. Krook, G. Dirksen (1977)
Evidence for anti-rachitic activity in the calcinogenic plant Trisetum flavescens.
Cornell Vet. 67, 332 - 349

Wasserman, R. H. and A. N. Taylor (1974)
Calcium absorption and CaBP synthesis: Solanum malacoxylon reverses strontium inhibition.
Science 183, 1092 - 1094

Wasserman, R. H. and A. N. Taylor (1973)
Intestinal absorption of phosphate in the chick: Effect of vitamin $D_3$ and other parameters.
J. Nutr. 103, 586 - 599

Wasserman, R. H. and A. N. Taylor (1966)
Vitamin $D_3$-induced CaBP in chick intestinal mucosa.
Science 152, 791 - 793

Wilczek, H., J. Ston, V. Pacovsky (1978)
Effect of Trisetum flavescens P. B. on calcium and phosphorus metabolism in rats. Experimental evidence for the principle actively affecting phospho-calcium homeostasis.
Physiol. Bohemoslov. 27, 219 - 223

Wilson, P. W. and D. E. M. Lawson (1977)
1,25-dihydroxyvitamin D stimulation of specific membrane proteins in chick intestine.
Biochem. Biophys. Acta 497, 805 - 811

Wilson, T. H. and G. Wiseman (1954)
The use of sacs of everted small intestine for the study of the transference of substance from the mucosal to the serosal surface.
J. Physiol. 123, 116 - 125

Worker, N. A. and B. J. Carillo (1967)
"Enteque seco", calcification and wasting in grazing animals in Argentine.
Nature 215, 72 - 74

Zucker, H., O. Kreutzberg, H. Nitsche, P. Bittner (1979)
Strontium and EHDP inhibition studies on Trisetum flavescens.
Fourth Workshop on Vitamin D, Berlin, 1979.
Abstracts p 157

Zucker, H., O. Kreutzberg, W. A. Rambeck (1977)
Vitamin D-like action of a steroid from Trisetum flavescens.
In: Vitamin D - Biochemical, chemical and clinical aspects related to calcium metabolism.
Eds: A. W. Norman, K. Schäfer, J. W. Coburn, H. F. De Luca, D. Fraser, H.-G. Grigoleit, D. v. Herrath
Walter de Gruyter, Berlin 1977, pp 85 - 87

Herrn Prof. Dr. H. Zucker danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und die jederzeit gewährte Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. W. A. Rambeck für die immer freundlich gewährte Hilfe und für viele wertvolle Anregungen.

Frau O. Kreutzberg und Frau A. Wetzel sei herzlich für die hilfreiche Beratung und freundliche Unterstützung bei den Versuchsvorbereitungen gedankt.

Bei Herrn Prof. Dr. E. Scharrer möchte ich mich für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes im Isotopenlabor und, wie auch besonders bei Fräulein B. Amann, für stets freundlich gegebene Ratschläge bedanken.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. J. Gropp sehr herzlich für die freundliche Anleitung bei der statistischen Auswertung der Versuche bedanken.

An dieser Stelle sei auch Herrn Dr. Küther für die freundliche Bereitstellung der Solanum malacoxylon-Blätter gedankt.

Schließlich gilt mein besonderer Dank dem Kollegen M. Pettrich für die Mithilfe bei der Durchführung der Versuche.

## LEBENSLAUF

Ich, Karin Geißdörfer, wurde am 28. Januar 1955 in Fürth / Bayern als erstes Kind des praktischen Tierarztes Dr. Fritz Geißdörfer und seiner Ehefrau Frieda, geborene Gukkenberger, geboren.

Von 1961 bis 1965 besuchte ich in Neustadt / Aisch die Volksschule, anschließend das Friedrich-Alexander-Gymnasium am gleichen Ort. Dort legte ich im Mai 1974 mein Abitur ab.

Ab November 1974 studierte ich Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München.

Nach dem Staatsexamen im Oktober 1979 und der Approbation als Tierärztin begann ich am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München mit der Anfertigung der vorliegenden Dissertation.

Vom April bis Dezember 1980 war ich am oben genannten Institut als wissenschaftliche Hilfskraft tätig.